

⑪公表特許公報(A)

平5-505459

⑫公表 平成5年(1993)8月12日

⑬Int.Cl. ⁵ G 01 N 27/327	識別記号 7235-2J 7235-2J	序内整理番号 G 01 N 27/30	審査請求 予備審査請求 有	未請求 353 R 353 Z※	部門(区分) 6(1)
(全 18 頁)					

⑭発明の名称 新規バイオセンサーおよびその使用方法

⑮特 願 平3-502803
⑯出 願 平2(1990)12月14日⑰翻訳文提出日 平4(1992)6月12日
⑱国際出願 PCT/US90/07374

⑲国際公開番号 WO91/09139

⑳国際公開日 平3(1991)6月27日

⑪優先権主張 ⑫1989年12月15日 ⑬米国(U S)⑭451,671

⑪発明者 ガーバー、マーチン・ティー アメリカ合衆国46032インディアナ州、カーメル、ネベル・レイン9
69番

⑪出願人 ベーリングター・マンハイム・コ アメリカ合衆国46250-0528インディアナ州、インディアナボリ
ーポレイション ス、ピー・オー・ボックス50528 (番地の表示なし)

⑪代理人 弁理士 青山 葦 外1名

⑪指定国 A T(広域特許), A U, B E(広域特許), C A, C H(広域特許), D E(広域特許), D K(広域特許), E S(広域
特許), F R(広域特許), G B(広域特許), G R(広域特許), I T(広域特許), J P, K R, L U(広域特許), N
L(広域特許), S E(広域特許)

最終頁に続く

請求の範囲

1. a. 第1電気絶縁体:
b. 同一の導電性物質から作られ、かつ第1電気絶縁体上に支持
されている実質的に同一の大きさの作用電極および対電極:

c. 第1電気絶縁体および電極に上塗りし、かつ作用電極および
対電極の実質的に等しい表面積を露出する切欠部を含む第2電気絶
縁体: ならびに

d. 切欠部において露出される電極表面を実質的に被覆し、かつ
該酸化還元メディエーターの酸化型、酵素および緩衝液からなる試薬
からなり、

該酸化還元メディエーターの酸化型が酵素、分析物、および酸化
還元メディエーターの酸化型を含む反応から少なくとも1個の電子
を受容するのに充分なタイプであり、かつ放射限定電気酸化によっ
て生じる電流を作用電極表面での酸化還元メディエーターの還元型
の酸化によって確実に限定するのに充分な量であり、

該酵素が酵素、分析物および酸化還元メディエーターの酸化型を

含む反応を触媒するのに充分なタイプおよび充分な量であり、

該緩衝液が酸化還元メディエーターの還元型よりも高い酸化電位
を有し、かつ酵素、分析物、および酸化還元メディエーターの酸化
型を含む反応を酵素が触媒するpHを提供し維持するのに充分なタ
イプおよび充分な量であることを特徴とする分析物分析装置。

2. 試薬がさらに、試薬中で酸化還元メディエーターを分散させ
るのに充分なタイプおよび充分な量の微結晶性物質からなる請求項
1記載の装置。

3. 試薬がさらに、少なくとも1つのさらなる酵素およびさらな
る酸化還元メディエーターからなる請求項1記載の装置。

4. 作用電極および対電極の導電性物質がパラジウム、白金、金、
銀、チタン、銅、および炭素からなる群から選択される請求項1記
載の装置。

5. 試薬がさらに、分析物を含有する試料を湿润させるのに充分
なタイプおよび充分な量の界面活性剤からなる請求項2記載の装置。

6. 試薬がさらに、試薬を安定させるのに充分なタイプおよび充

Best Available Copy

分量の試薬安定剤からなる請求項5記載の装置。

7. 分析物がグルコースであり、酸化還元メディエーターの酸化型がヘキサシアノ鉄(III)酸塩であり、酵素がグルコースオキシダーゼである請求項1記載の装置。

8. 分析物がグルコースであり、酸化還元メディエーターの酸化型がヘキサシアノ鉄(II)酸塩であり、酵素がグルコースオキシダーゼである請求項2記載の装置。

9. ヘキサシアノ鉄(III)酸塩の量が試薬1g当たり約0.55～約3.5ミリモルである請求項8記載の装置。

10. 分析物がグルコースであり、酸化還元メディエーターの酸化型がヘキサシアノ鉄(III)酸塩であり、緩衝液がリン酸塩であり、微結晶性物質が微結晶性セルロースおよび微結晶性カルボキシメチルセルロースを含み、酵素がグルコースオキシダーゼであり、界面活性剤がノニオン界面活性剤であり、試薬安定剤がグルタミン酸塩、アスパラギン酸塩、ブルーデキストラン、およびトレハロースからなる群から選択される請求項8記載の装置。

2) 試薬1g当たりリン酸塩緩衝液約1.3～約1.9ミリモル。

3) 試薬1g当たりグルコースオキシダーゼ約2300～約10,400単位。

4) 試薬1g当たり微結晶性セルロース約5.0～約7.1kg。

5) 試薬1g当たり微結晶性カルボキシメチルセルロース約2～約3kg。

6) 試薬1g当たりTRITON X-100約2～約3kg、および

7) 試薬1g当たりグルタミン酸塩約7.1～約10.2kg

からなる試薬

からなることを特徴とするグルコース分析装置。

13. さらに、

e. 作用電極および対電極と電気的に連結され、作用電極の表面で酸化還元メディエーターの還元型の拡散限界電気酸化を生じるのに充分な電位差を作用電極および対電極間に供給することができる

11. ヘキサシアノ鉄(III)酸塩の量が試薬1g当たり約0.55～約3.5ミリモルであり、リン酸塩緩衝液の量が試薬1g当たり約3.5～約2.6ミリモルであり、微結晶性物質の量が試薬1g当たり約3.6～約22.8kgであり、グルコースオキシダーゼの量が試薬1g当たり約570単位よりも多く、界面活性剤の量が試薬1g当たり約0～約1.8kgであり、試薬安定剤の量が試薬1g当たり約0～約20.0kgである請求項10記載の装置。

12. a. 第1電気絶縁体：

b. バラジウムから作られ、かつ第1電気絶縁体上で支持される実質的に同一の大きさの作用電極および対電極：

c. 第1電気絶縁体および電極に上塗りし、かつ作用電極および対電極の実質的に厚い表面層を形成する切欠部を含む第2電気絶縁体：ならびに

d. 切欠部において形成される電極表面を実質的に被覆し、かつ
1) 試薬1g当たりヘキサシアノ鉄(III)酸塩約1.1～約1.5ミリモル、

電源：ならびに

1. 作用電極および対電極と電気的に連結し、作用電極表面での酸化還元メディエーターの還元型の酸化によって生じる拡散限界電流を測定することができる計量器

からなる請求項1記載の装置。

14. さらに、

e. 作用電極および対電極と電気的に連結され、作用電極の表面で酸化還元メディエーターの還元型の拡散限界電気酸化を生じるのに充分な電位差を作用電極および対電極間に供給することができる電源：ならびに

f. 作用電極および対電極と電気的に連結し、作用電極表面での酸化還元メディエーターの還元型の酸化によって生じる拡散限界電流を測定することができる計量器

からなる請求項7記載の装置。

15. 第2電気絶縁体がさらに作用電極および対電極の一部を暴落するさらなる切欠部を含み、装置がさらに、

Best Available Copy

e. さらなる切欠部で作用電極および対電極と電気的に連結され、かつ作用電極の表面で酸化還元メディエーターの還元型の拡散限定電気活性化を生じるのに充分な電位差を作用電極および対電極間に供給することができる電極；ならびに

1. 作用電極および対電極と電気的に連結し、作用電極表面での酸化還元メディエーターの還元型の酸化によって生じる拡散限定電流を測定することができる計量器
からなる請求項1-2記載の装置。

16. 酸化還元メディエーターの酸化型、酵素、および緩衝液からなり、

該酸化還元メディエーターの酸化型が酵素、分析物、および酸化還元メディエーターの酸化型を含む反応から少なくとも1個の電子を受容するのに充分なタイプであり、かつ拡散限定電気活性化によって生じる電流を作用電極表面での酸化還元メディエーターの還元型の酸化によって確実に限定するのに充分な量であり、

該酵素が酵素、分析物、および酸化還元メディエーターの酸化型

21. 分析物がグルコースであり、酸化還元メディエーターの酸化型がヘキサシアノ鉄(III)酸塩であり、緩衝液がリン酸塩であり、微結晶性物質が微結晶性セルロースおよび微結晶性カルボキシメチルセルロースを含み、酵素がグルコースオキシダーゼであり、界面活性剤がノニオン界面活性剤であり、試薬安定剤がグルタミン酸塩、アスパラギン酸塩、ブルーデキストラン、およびトレハロースからなる群から選択される請求項2-0記載の試薬。

22. ヘキサシアノ鉄(III)酸塩の量が試薬1g当たり約0.55～約3.5ミリモルであり、リン酸塩緩衝液の量が試薬1g当たり約0.35～約2.6ミリモルであり、微結晶性物質の量が試薬1g当たり約3.6～約22.8mgであり、グルコースオキシダーゼの量が試薬1g当たり約570単位より多く、界面活性剤の量が試薬1g当たり約0～約1.8mgであり、試薬安定剤の量が試薬1g当たり約0～約2.0mgである請求項2-1記載の試薬。

23. a. 試薬1g当たりヘキサシアノ鉄(III)酸塩約1.1～約1.5ミリモル；

を含む反応を触媒するのに充分なタイプおよび充分な量であり、

該緩衝液が酸化還元メディエーターの還元型よりも高い酸化電位を有し、かつ酵素、分析物、および酸化還元メディエーターの酸化型を含む反応を酵素が触媒するpHを提供し維持するのに充分なタイプおよび充分な量であることを特徴とする、作用電極および対電極を有し、かつ分析物を測定する電気化学的装置のための試薬。

17. 試薬がさらに、少なくとも1つのさらなる酵素およびさらなる酸化還元メディエーターからなる請求項1-6記載の試薬。

18. さらに、試薬中で酸化還元メディエーターを分散させるのに充分なタイプおよび充分な量の微結晶性物質からなる請求項1-8記載の試薬。

19. さらに、分析物含有試料を湿润させるのに充分なタイプおよび充分な量の界面活性剤からなる請求項1-8記載の試薬。

20. さらに、試薬を安定させるのに充分なタイプおよび充分な量の試薬安定剤からなる請求項1-9記載の試薬。

b. 試薬1g当たりリン酸塩緩衝液約1.3～約1.9ミリモル、

c. 試薬1g当たりグルコースオキシダーゼ約2300～約1.0.

400単位；

d. 試薬1g当たり微結晶性セルロース約5.0～約7.1mg；

e. 試薬1g当たり微結晶性カルボキシメチルセルロース約2～約3mg；

f. 試薬1g当たりTRITON X-100約2～約3mg；および

g. 試薬1g当たりグルタミン酸塩約7.1～約10.2mg
からなることを特徴とする、作用電極および対電極を有し、かつグルコースを測定する電気化学的装置のための試薬。

24. a. 作用電極および対電極の実質的に等しい表面積を被覆し、かつ酸化還元メディエーターの酸化型、酵素、および緩衝液を含む試薬と液体を接触させ

〔ここで、酸化還元メディエーターの酸化型は酵素、分析物、および酸化還元メディエーターの酸化型を含む反応から少なくとも1個

Best Available Copy

の電子を受容するのに充分なタイプであり、かつ拡散限定電気酸化によって生じた電流を作用電極表面での酸化還元メディエーターの還元型の酸化によって確実に固定するのに充分な量であり、

該試薬は酵素、分析物、および酸化還元メディエーターの酸化型を含む反応を触媒するのに充分なタイプおよび充分な量であり、

該緩衝液は酸化還元メディエーターの還元型よりも高い酸化電位を有し、かつ酵素、分析物、および酸化還元メディエーターの酸化型を含む反応を酵素が触媒するpHを提供し維持するのに充分なタイプおよび充分な量である】：

b. 該酵素、分析物、および酸化還元メディエーターの酸化型を含む反応を完了させ；

c. 次いで、作用電極の表面で酸化還元メディエーターの還元型の拡散限定電気酸化を生じるのに充分な電位差を電極間に印加し；

d. その後、生じる拡散限定電流を測定し；

e. 液体中の分析物の濃度と電流測定値を関連させる

工程からなることを特徴とする液体中の分析物濃度測定方法。

なる群から選択される請求項27記載の方法。

29. ヘキサシアノ鉄(Ⅲ)酸塩の量が試薬1g当たり約0.55～約3.5ミリモルであり、リン酸塩緩衝液の量が試薬1g当たり約0.

3.5～約2.6ミリモルであり、微結晶性物質の量が試薬1g当たり約3.6～約22.8mgであり、グルコースオキシダーゼの量が試薬1g当たり約5.70単位より多く、界面活性剤の量が試薬1g当たり約0.1～約1.6mgであり、試薬安定剤の量が試薬1g当たり約0.1～約2.00mgである請求項28記載の試薬。

30. a. 作用電極および対電極の実質的に等しい表面積を被覆し、かつ

試薬1g当たりヘキサシアノ鉄(Ⅲ)酸塩約1.1～約1.5ミリモル、

試薬1g当たりリン酸塩緩衝液約1.3～約1.9ミリモル、

試薬1g当たりグルコースオキシダーゼ約2300～約10,400単位、

試薬1g当たり微結晶性セルロース約5.0～約7.1mg、

25. 試薬がさらに、少なくとも1つのさらなる酵素およびさらなる酸化還元メディエーターを含む請求項24記載の方法。

26. 試薬がさらに、試薬中で酸化還元メディエーターを分散させるのに充分なタイプおよび充分な量の微結晶性物質を含む請求項24記載の方法。

27. 試薬がさらに、

試薬との接触によって液体を温潤させるのに充分なタイプおよび充分な量の界面活性剤、および

試薬を安定させるのに充分なタイプおよび充分な量の試薬安定剤を含む請求項26記載の方法。

28. 分析物がグルコースであり、酸化還元メディエーターの酸化型がヘキサシアノ鉄(Ⅲ)酸塩であり、緩衝液がリン酸塩であり、微結晶性物質が微結晶性セルロースおよび微結晶性カルボキシメチルセルロースを含み、酵素がグルコースオキシダーゼであり、界面活性剤がノニオン界面活性剤であり、試薬安定剤がグルタミン酸塩、アスパラギン酸塩、ブルーデキストラン、およびトレハロースから

試薬1g当たり微結晶性カルボキシメチルセルロース約2～

約3mg、および

試薬1g当たりグルタミン酸塩約7.1～約10.2mg

を含む試薬と液体を接触させ；

b. 酵素、分析物、および酸化還元メディエーターの酸化型を含む反応を完了させ；

c. 次いで、作用電極の表面で酸化還元メディエーターの還元型の拡散限定電気酸化を生じるのに充分な電位差を電極間に印加し；

d. その後、生じる拡散限定電流を測定し；

e. 液体中のグルコースの濃度を電流測定値に関連させる

工程からなることを特徴とする液体中のグルコース濃度測定方法。

31. a. 第1電気絶縁体；

b. 同一の導電性物質から作られ、かつ第1電気絶縁体上で支持される実質的に同一の大きさの作用電極および対電極；

c. 第1電気絶縁体および電極に上塗りし、かつ作用電極および対電極の実質的に等しい表面積を暴露する切欠部を含む第2電気絶

媒体：および

d. 切欠部において曝露される電極表面を実質的に被覆し、かつ酸化還元メディエーターの還元型、酵素、および緩衝液からなる試薬からなり、

該酸化還元メディエーターの還元型が酵素、分析物、および酸化還元メディエーターの還元型を含む反応から少なくとも1個の電子を供与するのに充分なタイプであり、かつ拡散限界電気還元によって生じる電流を作用電極表面での酸化還元メディエーターの酸化型の還元によって確實に限定するのに充分な量であり、

該酵素が酵素、分析物、および酸化還元メディエーターの還元型を含む反応を触媒するのに充分なタイプおよび充分な量であり、

該緩衝液が酸化還元メディエーターの酸化型よりも低い還元電位を有し、かつ酵素、分析物、および酸化還元メディエーターの還元型を含む反応を酵素が触媒するpHを提供し維持するのに充分なタイプおよび充分な量であることを特徴とする分析物分析用装置。

3.2. 試薬がさらに、

らなり、

該酸化還元メディエーターの還元型が酵素、分析物、および酸化還元メディエーターの還元型を含む反応から少なくとも1個の電子を供与するのに充分なタイプであり、かつ拡散限界電気酸化によって生じる電流を作用電極表面での酸化還元メディエーターの酸化型の還元によって確實に限定するのに充分な量であり、

該酵素が酵素、分析物、および酸化還元メディエーターの還元型を含む反応を触媒するのに充分なタイプおよび充分な量であり、

該緩衝液が酸化還元メディエーターの酸化型よりも低い還元電位を有し、かつ酵素、分析物、および酸化還元メディエーターの還元型を含む反応を酵素が触媒するpHを提供し維持するのに充分なタイプおよび充分な量である

ことを特徴とする、作用電極および対電極を有し、かつ分析物を測定する電気化学的装置のための試薬。

3.5. さらに、

試料中で酸化還元メディエーターを分散させるのに充分なタイプ

試薬中で酸化還元メディエーターを分散させるのに充分なタイプ

および充分な量の微結晶性物質、

分析物含有試料を湿润させるのに充分なタイプおよび充分な量の界面活性剤、および

試薬を安定させるのに充分なタイプおよび充分な量の試薬安定剤からなる請求項3.1記載の装置。

3.3. さらに、

c. 作用電極および対電極と電気的に連絡され、作用電極の表面で酸化還元メディエーターの酸化型の拡散限界電気還元を生じるのに充分な電位差を作用電極および対電極間に供給することができる電源；ならびに

f. 作用電極および対電極と電気的に連絡し、作用電極表面での酸化還元メディエーターの酸化型の還元によって生じる拡散限界電流を測定することができる計量器からなる請求項3.1記載の装置。

3.4. 酸化還元メディエーターの還元型、酵素、および緩衝液か

および充分な量の微結晶性物質、

分析物含有試料を湿润させるのに充分なタイプおよび充分な量の界面活性剤；および

試薬を安定させるのに充分なタイプおよび充分な量の試薬安定剤からなる請求項3.4記載の試薬。

3.6. a. 作用電極および対電極の実質的に等しい表面積を被覆し、かつ酸化還元メディエーターの還元型、酵素、および緩衝液を含む試薬と液体を接触させ

[ここで、酸化還元メディエーターの還元型は酵素、分析物、および酸化還元メディエーターの還元型を含む反応から少なくとも1個の電子を供与するのに充分なタイプであり、かつ拡散限界電気酸化によって生じた電流を作用電極表面での酸化還元メディエーターの酸化型の還元によって確實に限定するのに充分な量であり、

該酵素は酵素、分析物、および酸化還元メディエーターの還元型を含む反応を触媒するのに充分なタイプおよび充分な量であり、

該緩衝液は酸化還元メディエーターの酸化型よりも低い還元電位

Best Available Copy

を有し、かつ酵素、分析物、および酸化還元メディエーターの還元型を含む反応を酵素が触媒するpHを提供し維持するのに充分なタイプおよび充分な量である】：

b. 該酵素、分析物、および酸化還元メディエーターの還元型を含む反応を完了させ；

c. 次いで、作用電極の表面で酸化還元メディエーターの酸化型の拡散限定電気還元を生じるのに充分な電位差を電極間に印加し；

d. その後、生じる拡散限定電流を測定し；

e. 液体中の分析物の濃度と電流測定値を関連させる

工程からなることを特徴とする液体中の分析物濃度測定方法。

3.7. 試薬がさらに、

試薬中で酸化還元メディエーターを分散させるのに充分なタイプおよび充分な量の微結晶性物質、

分析物含有試料を湿润させるのに充分なタイプおよび充分な量の界面活性剤、および

試薬を安定させるのに充分なタイプおよび充分な量の試薬安定剤

含む反応を触媒するのに充分なタイプおよび充分な量であり、

該緩衝液が酸化還元メディエーターの還元型よりも高い酸化電位を有し、かつ酵素、分析物、および酸化還元メディエーターの酸化型を含む反応を酵素が触媒するpHを提供し維持するのに充分なタイプおよび充分な量であることを特徴とする分析物分析装置。

3.8. 試薬がさらに、試薬中で酸化還元メディエーターを分散させるのに充分なタイプおよび充分な量の微結晶性物質からなる請求項3.8記載の装置。

4.0. 試薬がさらに、少なくとも1つのさらなる酵素およびさらなる酸化還元メディエーターからなる請求項3.8記載の装置。

4.1. 作用電極および対電極の導電性物質がパラジウム、白金、金、銀、チタン、銅、および炭素からなる群から選択される請求項3.8記載の装置。

4.2. 試薬がさらに、分析物含有試料を湿润させるのに充分なタイプおよび充分な量の界面活性剤からなる請求項3.9記載の装置。

4.3. 試薬がさらに、試薬を安定化させるのに充分なタイプおよ

を含む請求項3.8記載の方法。

3.8. a. 第1電気絶縁体；

b. 同一の導電性物質から作られ、かつ第1電気絶縁体上で支持

されている作用電極および該作用電極よりも小さい対電極；

c. 第1電気絶縁体および電極に上塗りし、作用電極よりも小さい対電極の表面積を暴露する切欠部を含む第2電気絶縁体；および

d. 切欠部において暴露出された電極表面を実質的に被覆し、かつ酸化還元メディエーターの酸化型、酵素、および緩衝液からなる試薬

からなり、

該酸化還元メディエーターの酸化型が酵素、分析物、および酸化還元メディエーターの酸化型を含む反応から少なくとも1個の電子を受容するのに充分なタイプであり、かつ拡散限定電気酸化によって生じる電流を作用電極表面での酸化還元メディエーターの還元型の酸化によって確実に限定するのに充分な量であり、

該酵素が酵素、分析物および酸化還元メディエーターの酸化型を

び充分な量の試薬安定剤からなる請求項4.2記載の装置。

4.4. 分析物がグルコースであり、酸化還元メディエーターの酸化型がヘキサシアノ鉄(III)酸塩であり、酵素がグルコースオキシダーゼである請求項3.8記載の装置；

4.5. 分析物がグルコースであり、酸化還元メディエーターの酸化型がヘキサシアノ鉄(III)酸塩であり、酵素がグルコースオキシダーゼである請求項3.9記載の装置。

4.6. 分析物がグルコースであり、酸化還元メディエーターの酸化型がヘキサシアノ鉄(III)酸塩であり、緩衝液がリン酸塩であり、微結晶性物質が微結晶性セルロースおよび微結晶性カルボキシメチルセルロースを含み、酵素がグルコースオキシダーゼであり、界面活性剤がノニオン界面活性剤であり、試薬安定剤がグルタミン酸塩、アスパラギン酸塩、ブルーデキストラン、およびトレハロースからなる群から選択される請求項4.3記載の装置。

4.7. さらに、

e. 作用電極および対電極と電気的に連絡され、かつ作用電極の

Best Available Copy

表面で酸化還元メディエーターの還元型の拡散限電気酸化を生じるのに充分な電位差を作用電極および対電極間に供給することができる電源；および

a. 作用電極および対電極と電気的に連結し、かつ作用電極表面での酸化還元メディエーターの還元型の酸化によって生じる拡散限電流を測定することができる計量器からなる請求項3.8記載の装置。

4.8. a. 作用電極よりも小さい対電極の表面積を被覆し、かつ酸化還元メディエーターの酸化型、酵素、および緩衝液を含む試薬と液体を接触させ

[ここで、酸化還元メディエーターの酸化型は酵素、分析物、および酸化還元メディエーターの酸化型を含む反応から少なくとも1個の電子を受容するのに充分なタイプであり、かつ拡散限電気酸化によって生じた電流を作用電極表面での酸化還元メディエーターの還元型の酸化によって確実に限定するのに充分な量であり、

該酵素は酵素、分析物、および酸化還元メディエーターの酸化型

を含む反応を触媒するのに充分なタイプおよび充分な量であり、

該緩衝液は酸化還元メディエーターの還元型よりも高い酸化電位を有し、かつ酵素、分析物、および酸化還元メディエーターの酸化型を含む反応を酵素が触媒するpHを提供し維持するのに充分なタイプおよび充分な量である]：

b. 該酵素、分析物、および酸化還元メディエーターの酸化型を含む反応を完了させ：

c. 次いで、作用電極の表面で酸化還元メディエーターの還元型の拡散限電気酸化を生じるのに充分な電位差を電極間に印加し：

d. その後、生じる拡散限電流を測定し：

e. 液体中の分析物の濃度と電流測定値を関連させる工程からなることを特徴とする液体中の分析物濃度測定方法。

4.9. 試薬がさらに、少なくとも1つのさらなる酵素およびさらなる酸化還元メディエーターを含む請求項4.8記載の方法。

5.0. 試薬がさらに、試薬中で酸化還元メディエーターを分散させるのに充分なタイプおよび充分な量の微結晶性物質を含む請求項

4.8記載の方法。

5.1. 試薬がさらに、

試薬との接触によって液体を混濁させるのに充分なタイプおよび

充分な量の界面活性剤、および

試薬を安定させるのに充分なタイプおよび充分な量の試薬安定剤を含む請求項5.0記載の方法。

5.2. 分析物がグルコースであり、酸化還元メディエーターの酸化型がヘキサシアノ鉄(Ⅲ)酸塩であり、緩衝液がリン酸塩であり、微結晶性物質が微結晶性セルロースおよび微結晶性カルボキシメチルセルロースを含み、酵素がグルコースオキシダーゼであり、界面活性剤がノニオン界面活性剤であり、試薬安定剤がグルタミン酸塩、アスパラギン酸塩、ブルーデキストラン、およびトレハロースからなる群から選択される請求項5.1記載の方法。

5.3. a. 第1電気絶縁体：

b. 同一の導電性物質から作られ、かつ第1電気絶縁体上で支持される作用電極および該作用電極よりも小さい対電極；

c. 第1電気絶縁体および電極に上空りし、かつ作用電極よりも小さい対電極の表面積を暴露する切欠部を含む第2電気絶縁体；および

d. 切欠部において暴露される電極表面を実質的に被覆し、かつ酸化還元メディエーターの還元型、酵素、および緩衝液からなる試薬からなり、

該酸化還元メディエーターの還元型が酵素、分析物、および酸化還元メディエーターの還元型を含む反応から少なくとも1個の電子を供与するのに充分なタイプであり、かつ拡散限電気還元によって生じる電流を作用電極表面での酸化還元メディエーターの酸化型の還元によって確実に限定するのに充分な量であり、

該酵素が酵素、分析物、および酸化還元型メディエーターの還元型を含む反応を触媒するのに充分なタイプおよび充分な量であり、

該緩衝液が酸化還元メディエーターの酸化型よりも低い還元電位を有し、かつ酵素、分析物、および酸化還元メディエーターの還元型を含む反応を酵素が触媒するpHを提供し維持するのに充分なタ

Best Available Copy

イブおよび充分な量であることを特徴とする分析物分析装置。

54. 試薬がさらに、

試薬中で酸化還元メディエーターを分散させるのに充分なタイプ

および充分な量の微結晶性物質、

分析物含有試料を湿润させるのに充分なタイプおよび充分な量の界面活性剤、および

試薬を安定させるのに充分なタイプおよび充分な量の試薬安定剤からなる請求項53記載の装置。

55. さらに、

e. 作用電極および対電極と電気的に連結され、かつ作用電極の表面で酸化還元メディエーターの酸化型の拡散限界電気還元を生じるのに充分な電位差を作用電極および対電極間に供給することができる電源；および

f. 作用電極および対電極と電気的に連結し、作用電極表面での酸化還元メディエーターの酸化型の還元によって生じる拡散限界電流を測定することができる計量器

からなる請求項53記載の装置。

56. a. 作用電極よりも小さい対電極の表面積を被覆し、かつ酸化還元メディエーターの還元型、酵素、および緩衝液を含む試薬

と液体を接触させ

[ここで、酸化還元メディエーターの還元型は酵素、分析物、および酸化還元メディエーターの還元型を含む反応から少なくとも1個の電子を供与するのに充分なタイプであり、かつ拡散限界電気還元によって生じる電流を作用電極表面での酸化還元メディエーターの酸化型の還元によって確實に限定するのに充分な量であり、

該酵素は酵素、分析物、および酸化還元メディエーターの還元型を含む反応を触媒するのに充分な量であり、

該緩衝液は酸化還元メディエーターの酸化型よりも低い還元電位を有し、かつ酵素、分析物、および酸化還元メディエーターの還元型を含む反応を酵素が触媒するpHを提供し維持するのに充分なタイプおよび充分な量である】；

b. 酵素、分析物、および酸化還元メディエーターの還元型を

含む反応を完了させ；

明細書

新規バイオセンサーおよびその使用方法

c. 次いで、作用電極の表面で酸化還元メディエーターの酸化型の拡散限界電気還元を生じるのに充分な電位差を電極間に印加；

d. その後、生じる拡散限界電流を測定し；

関連出願相互参照

本出願は1988年12月15日に出願した米国特許出願第07

/451,871号の一部継続である。

発明の分野

本発明は、一般に、液中の分析物濃度測定に関し、さらに詳細には、このような測定に使用するための電流測定バイオセンサーに関する。

発明の背景

バイオセンサーは新しくない。液中の種々の分析物の濃度の測定におけるそれらの使用も知られている。

ナシカイら(Nankai et al.)（1986年12月31日に公開されたWO86/07832）は、グルコース含有液をグルコースオキシダーゼおよびヘキサシアノ鉄(III)酸カリウムと接触させる電流

e. 液体中の分析物の濃度と電流測定値を関連させる

工程からなる液体中の分析物濃度測定方法。

57. 試薬がさらに、

試薬中で酸化還元メディエーターを分散させるのに充分なタイプおよび充分な量の微結晶性物質、

試薬と接触させることによって液体を湿润せしめるのに充分なタイプおよび充分な量の界面活性剤、および

試料を安定させるのに充分なタイプおよび充分な量の試薬安定剤からなる請求項56記載の方法。

Best Available Copy

測定バイオセンサーシステムを示している。グルコースを酸化し、ヘキサシアノ鉄(Ⅲ)酸塩をヘキサシアノ鉄(Ⅱ)酸塩に還元する。(この反応はグルコースオキシダーゼによって触媒される。) 2分後、

電位を印加し、ヘキサシアノ鉄(Ⅱ)酸塩からヘキサシアノ鉄(Ⅲ)酸塩への再酸化によって生じる電流を得る。該電位を印加して数秒後に得られる電流値は液中のグルコースの濃度と関連する。

ナンカイらが電位の印加時にグルコースおよびヘキサシアノ鉄(Ⅲ)酸塩の反応を完全に行う方法を示しているので、この方法を電流測定測定の「終点」法と称する。

ナンカイらはグルコースオキシダーゼおよびヘキサシアノ鉄(Ⅲ)酸カリウムを不織ナイロンマッシュ上に保持するシステムを示している。該マッシュは作用電極、対電極および参照電極と接触するように配置される。対電極および参照電極の合計表面積は作用電極の2倍である。

ウゴマン(Wogaman) (1986年12月30日に公開されたEP 0206218) は、異なる導電性物質から作られる2つの電極

対電極が作用電極より長い二電極システム。

電気化学技術分野における従来の識者は、バイオセンサーが、作用電極および対電極が実質的に同一の大きさであり(または対電極が作用電極よりも小さく)、同一の導電性物質から作られる二電極システムを含み得ることを提案していない。

発明の概要

本発明は、新規バイオセンサー(電気化学的装置)およびその使用方法である。該バイオセンサーは、同一の導電性物質から作られ、かつ第1電極絶縁体に貼付された実質的に同一の大きさの作用電極および対電極を含む。作用電極および対電極の実質的に等しい表面を露出する切欠部を含む第2電極絶縁体を電極に上塗りする。

試薬は該切欠部に添加される。該試薬は切欠部において蓄積される電極表面を実質的に被覆し、酸化還元メディエーター、酵素および緩衝液を含む。

分析物含有試料を該試薬に添加すると、酸化還元メディエーターは還元される(少なくとも1個の電子を受容する)かまたは酸化され

るを有するバイオセンサーを示している。例えば、陽極は白金のような陽極材料から形成され、陰極は銀のような陰極材料から形成される。陽極は酵素で密布される。好ましい具体例において、空気された電極はグルコースを透過することができるエラストマーで被覆されている。

ポットゲンら(Pottgen et al.) (1988年9月21日に公開されたWO 89/08713) は、電極が同一の貴金属から作られるが、該電極の一方(該参照電極と称する)が他方(作用)電極よりも長い二電極バイオセンサーの使用を示している。

電気化学技術分野における従来の識者は以下のタイプのバイオセンサーを提案している:

- 1) 作用電極が参照電極(例えば、銀/塩化銀)に対して照合され、対電極が電流の流れのための手段を提供する三電極システム;
- 2) 作用電極および対電極が異なる導電性物質から作られる二電極システム;ならびに
- 3) 作用電極および対電極が同一の導電性物質から作られるが、

る(少なくとも1個の電子を供与する)かいずれかである反応において分析物、酵素および酸化還元剤が沈殿する。通常、この反応において、分析物は酸化され、酸化還元メディエーターは還元される。

この反応(ここで、分析物が酸化され、酸化還元メディエーターが還元される)が終了した後、該電極間に電位差が印加される。対電極での酸化還元メディエーターの酸化型の量および印加された電位差は作用電極の表面で酸化還元メディエーターの還元型の社酸還元電気酸化を生じるのに充分でなければならない。短時間遅延の後、酸化還元メディエーターの還元型の電気酸化によって生じる電流を測定し、観察された電流は試料中の分析物の量と関連される。

試薬が、作用電極表面での酸化還元メディエーターの還元型の酸化によって、電気酸化中に生じる電流を確実に限定するのに充分な量の酸化還元メディエーターの酸化型を含む場合、同一の導電性物質から作られた実質的に同一の大きさの2つの電極だけが必要であるのが重要である。

作用電極表面での酸化還元メディエーターの還元型の酸化によっ

Best Available Copy

て限定されるべき電気酸化中に生じる電流について、対電極の表面での酸化還元メディエーターの酸化型の量は常に作用電極の表面での酸化還元メディエーターの還元型の量を超えてなければならない。

図面の簡単な説明

第1図は試薬およびメッシュ被覆を除く本発明バイオセンサーの好ましい具体例の略平面図である。

第2図は試薬およびメッシュ被覆を含む第1図の断2-2に沿った本発明のバイオセンサーの略正面図である。

第3図はメッシュ被覆を含む本発明のバイオセンサーの好ましい具体例の略平面図である。

発明の詳細な説明

第1図～第3図をさらに詳細に引用して、本発明のバイオセンサーの現在の好ましい具体例を示す。

バイオセンサー1は第1および第2電気絶縁層2および3からなる。いずれの有用な絶縁材料も適切であろう。典型的には、ビニルポリマーおよびポリイミドのようなプラスチックが望ましい電気的

貴金属よりも空気酸化され易いので好ましくない。好ましくは、電極4および5は厚さ約0.1ミクロンであり、基材7は厚さ約25ミクロンである【コータルズーアンドス・パフォーマンス・フィルムズ・イン・カリフォルニアンド・サウスウェール・テクノロジーズ・インコーポレイテッド(Courtalz-Andus Performance Films in California and Southwall Technologies, Inc.)から商業的に入手可能】(第2図)。

電極4および5は一方の電極での電気化学的事象が他方の電極での電気化学的事象を妨害しないように充分に離されなければならない。電極4および5の間の好ましい距離は約1.2ミリメートル(mm)である。

好ましい具体例において、基材7に貼付された電極4および5はリールから繰り出されず、熱溶融接着剤(示されていない)の使用によって層2に付着される。また、電極4および5は平行に配置されて層2の一方の端部から他の端部まで伸びているのが好ましい(第1図)。

および構造的特性を提供する。

第1図～第3図に示すバイオセンサーは、ロールプロセスに関して充分に可焼性であり、かつ同時に、最終バイオセンサーに有用な隙さを与えるのに充分に耐い材料の選択を必要とする材料のロールから製造される塊であることが意図される。

層2および3はいずれの有用な厚さであってもよい。好ましい具体例において、層2は厚さ約360ミクロンであり、層3は厚さ約250ミクロンである。

作用電極4および対電極5は好ましくはポリイミドのような絶縁材料の基材7上に配置され、層2に貼付される前に電極を引き裂く可能性を低下させる。作用電極4および対電極5は実質的に同一の大きさであり、同一の導電性物質から作られる。使用し得る導電性物質の例は、パラジウム、白金、金、銀、炭素、チタン、および錫である。貴金属は、より一定の再現可能な電極表面積を提供するので好ましい。パラジウムは、より酸化しにくい貴金属の1つであり、かつ相対的に安価な貴金属であるので好ましい。銀は、上記の他の

絶縁層3は熱溶融接着剤(示されていない)の使用によって層2ならびに電極4および5の上部に固定される。層3は、試薬ウェル9を定義し、かつ電極4および5の実質的に等しい表面積10を暴露する切欠部8を含む。

好ましい具体例において、切欠部8は4mm×6mmであり、電極4および5は各々幅1.5mmである。したがって、2つの電極の各々について表面積約6mm²が暴露される。

また、バイオセンサー1は、作用電極および対電極と電気的に連結している電源(示されていない)ならびに作用電極および対電極と電気的に連結している電流計(示されていない)も含む。

バイオセンサー試薬1-1(第2図)は電極4および5の暴露表面10の実質的に全てを被覆するように、好ましくは該電極間の層2の暴露表面を被覆するようにウェル9中に配置される。

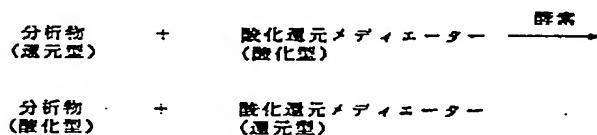
最小限、試薬1-1は酸化還元メディエーターの酸化型、酵素および緩衝液を含む。該酸化還元メディエーターの酸化型は、酵素、分析物、および酸化還元メディエーターの酸化型を含む反応から少な

Best Available Copy

くとも1個の電子を受容するのに充分なタイプのものでなければならぬ。(酸化還元メディエーターなる語は電気化学的可逆的酸化還元反応を受けることができるメディエーターを意味する。) すな

ば酵素は酵素、分析物および酸化還元メディエーターの酸化型を含む反応を触媒するのに充分なタイプおよび充分な量でなければならぬ。該種衝液は、酵素、分析物および酸化還元メディエーターの酸化型を含む反応を該酵素が触媒するpHを提供し、維持するのに充分なタイプのものおよび充分な量でなければならない。

一般的に、分析物含有試料を試薬に添加すると、以下に示すとおり該分析物が酸化され、該酸化還元メディエーターの酸化型が還元される:



上記反応は完了させられる。〔完了は、分析物濃度を作用電極の表面での酸化還元メディエーターの還元型の酸化によって生じる拡散

酸化還元メディエーターを使用することによって、および拡散限定電気酸化中に生じる電流を作用電極での酸化還元メディエーターの還元型の酸化によって確実に制限するのに充分な量の酸化還元メディエーターの酸化型を試薬1-1に供給することによって満足される。〕

作用電極表面での酸化還元メディエーターの還元型の酸化によって限られるべき電気酸化中に生じる電流について、対電極の表面での酸化還元メディエーターの酸化型の量は、常に作用電極の表面での酸化還元メディエーターの還元型の量を超なければならない。

以下に記載するように、試薬が過剰の酸化還元メディエーターの酸化型を含む場合、作用電極および対電極は実質的に同一の大きさであってよく、かつ同一の導電性物質から作られてよい。実質的に同一の大きさであり、かつ同一材料から作られる電極の利用能はバイオセンサーを製造するために重要な長所を表す。

試薬のさらなる必要条件は使用される緩衝液が酸化還元メディエーターの還元型よりも高い酸化電位を有しなければならないということである。

限定電流と間違させるのに充分な分析物、酵素、および酸化還元メディエーター(酸化型)を含む反応と定義される。〕反応が完了した後、電極(例えば、バッテリー)は電極間に電位差を印加する。電位

差を印加する場合、対電極での酸化還元メディエーターの酸化型の量および電位差は作用電極表面での酸化還元メディエーターの還元型の拡散限定電気酸化を生じるのに充分でなければならない。作用電極表面での酸化還元メディエーターの還元型の酸化によって生じる拡散限定電流を電流計によって測定する。

測定された電流は以下の必要条件が満足される場合に試料中の分析物の濃度に正確に関連され得る:

1) 酸化還元メディエーターの還元型の酸化速度が作用電極の表面に対する酸化還元メディエーターの還元型の拡散速度によって左右される: および

2) 生じた電流が作用電極の表面での酸化還元メディエーターの還元型の酸化によって限定される。

本発明の装置において、これらの必要条件は、容易に可逆できる

使用される酵素のタイプは測定されるべき分析物に依存するであろう。例えば、グルコースが測定されるべき分析物であるならば、グルコースオキシダーゼが酵素として使用されてよい。コレステロールが測定されるべき分析物であるならば、コレステロールオキシダーゼが酵素として使用されてよい。

前記説明のように、酸化還元メディエーターは容易に可逆できなければならず、酸化還元メディエーターの酸化型は酵素、分析物および酸化還元メディエーターの酸化型を含む反応から少なくとも1個の電子を受容するのに充分なタイプでなければならない。例えば、グルコースが測定されるべき分析物であり、グルコースオキシダーゼが酵素である場合、ヘキサシアノ鉄(III)酸塩またはキノンが酸化還元メディエーターの酸化型であってよい。

本発明によって個々の分析物を測定する際に使用してよい酵素および酸化還元メディエーター(酸化型)の他の例を下記第1表に示す。

分析物	試験	試験元メティエーター(液)(ml)	
		ヘキサシアノ鉄(Ⅲ)酸塩	ヘキサシアノ鉄(Ⅱ)酸塩
グルコース	グルコースヒドロゲーター、および ジアキラーブ	2.0-1.4-ベンゾンキノン 2.5-クロロ-1.4-ベンゾンキノン またはフタナントスルフルムート	2.0-1.4-ベンゾンキノン 2.5-クロロ-1.4-ベンゾンキノン またはフタナントスルフルムート
コレステロール	コレステロールエスチダーザ コレステロールオキシダーザ	ヘキサシアノ鉄(Ⅲ)酸塩	ヘキサシアノ鉄(Ⅱ)酸塩
HDLコレレスチロール	コレレスチロールエスチダーザ コレレスチロールオキシダーザ	ヘキサシアノ鉄(Ⅲ)酸塩	ヘキサシアノ鉄(Ⅱ)酸塩
トリグリセリド	リボフィラバーゼ、 グリセロカルボ-3-リシンオキシダーザ トリセオキシダーザ	ヘキサシアノ鉄(Ⅲ)酸塩 またはジントストラフィード ヘキサシアノ鉄(Ⅱ)酸塩 またはジントストラフィード またはジントストラフィード	ヘキサシアノ鉄(Ⅲ)酸塩 またはジントストラフィード またはジントストラフィード またはジントストラフィード
乳酸脱氫酶	乳酸脱氫酶-および リニアキラーブ	ヘキサシアノ鉄(Ⅲ)酸塩 またはジントストラフィード またはジントストラフィード	ヘキサシアノ鉄(Ⅲ)酸塩 またはジントストラフィード またはジントストラフィード
乳酸デヒドロゲナー	ビルビン酸オキシダーザ アルコール	ヘキサシアノ鉄(Ⅲ)酸塩 アルコカルボキシダーザ ビリルビンオキシダーザ クレアラーゼ	フェニニンカブシ ヘキサシアノ鉄(Ⅲ)酸塩 1-メトキシ-2-メチナントスルフルムート ヘキサシアノ鉄(Ⅱ)酸塩

20秒以内で、グルコース、グルコースオキシダーザおよびヘキサシアノ鉄(Ⅲ)酸塩を含む反応の完了を達成するであろう試薬を提供する。試薬12当たり約 2×10^6 単位以上のグルコースオキシダーザでは、該試薬は製造するのに必要により多くの費用がかかる。

(これらのグルコースオキシダーザの量は電極表面上で乾燥する前の試薬組成物に関する。)

試薬中の必要な酸化還元メティエーターの酸化型の有効量は測定しようとする分析物の濃度範囲によって左右される。グルコース(ここに記載された)を分析するための試薬は、容量約1.0~約7.0 mlのヒト全血の試料中のグルコースレベルを測定するのに充分な酸化還元メティエーター(酸化型)を含む。電極4および5の間に電位差が印加される場合、対電極の表面での酸化還元メティエーターの酸化型の量が作用電極での酸化還元メティエーターの還元型の量を超えるように充分な酸化還元メティエーターの酸化型を該試薬に供給しなければならない。

酸化還元メティエーター(酸化型)の量の上限は、通常、試薬中の

第1表に示した例のいくつかにおいて、反応触媒として、少なくとも1つのさらなる酵素が使用される。また、第1表に示した例のいくつかは、酸化還元メティエーターの酸化型への電子移動を促進するさらなるメティエーターを利用してよい。さらなるメティエーターは、酸化還元メティエーターの酸化型よりも少ない量で試薬に供給されてよい。

試薬中に含まれる酵素の量は、分析物、酵素、および酸化還元メティエーターの酸化型を含む反応の完了のための所要の時間に依存して変わり得る。酵素の添加量が多いほど反応の完了のための時間は短い。グルコース試薬がグルコースオキシダーザを含む場合、試薬中に試薬(電極表面上で乾燥する前の試薬組成物に関する)12当たり約 0.5×10^6 国際単位(単位)を超えるグルコースオキシダーザを使用すべきであり、好ましくは、試薬12当たり約 2×10^6 単位のグルコースオキシダーザを使用する。試薬12当たり約 0.5×10^6 以下では、検定性質が劣る。試薬12当たり約 2×10^6 単位のグルコースオキシダーザは、反応についての好都合な短時間、約

メティエーターの溶解度および分散性に依存するであろう。グルコースオキシダーザ用バイオセンサーによって例示される本発明に関する試薬は、好ましくは、試薬中に酸化還元メティエーターを分散させることに充分なタイプおよび充分な量の微結晶性物質を含む。

酸化還元メティエーターを分散させるであろう微結晶性物質の例は、微結晶性セルロース、デキストラン、およびキチンである。グルコースオキシダーザおよびヘキサシアノ鉄(Ⅲ)酸カリウムを含む好ましいグルコース試薬中に含まれる微結晶性物質の量は、約1%(重量:容量)~約4.5%(重量:容量)、好ましくは約1.5%(重量:容量)である。微結晶性物質約1%(重量:容量)以下では、乾燥後、試薬が電極表面から落ちるであろう。微結晶性物質約4.5%(重量:容量)以上では、試薬はグル化する。ヘキサシアノ鉄(Ⅲ)酸塩およびグルコースオキシダーザを含むグルコース試薬について、好ましい微結晶性物質はAVICEL RC-591F(エフエムシー・コーポレーション(FMC Corp.)から入手可能な微結晶性セルロース)およびNATROSOL-250M(アクアロン

Best Available Copy

(Aqualon)から入手可能な微結晶性カルボキシメチルセルロース]

である。試薬中のAVICELの量は約1%～約4.2%(重量:容量)の範囲であってよく、好みくは約1.4%(重量:容量)である。

試薬中のNATROSOLの量は約0%～約0.3%(重量:容量)の範囲であってよく、好みくは約0.06%(重量:容量)である。(これらのパーセンテージは電極表面上で乾燥する前の試薬組成物に関する。)

該試薬にAVICELおよびNATROSOLを添加した場合、上記範囲内で、該試薬中に混合されてよいヘキサシアノ鉄(III)酸カリウムの量は、約0.15モル(M)～約0.7Mの範囲であってよく、好みくは約0.3Mである。ヘキサシアノ鉄(III)酸塩の濃度が0.15M以下である場合および0.7M以上である場合は、バイオセンサーの性能は低下する。(これらのモル濃度は電極表面上で乾燥する前の試薬組成物に関する。)

また、試薬は測定されるべき分析物を含有する試料を潤滑させるのに充分なタイプおよび充分な量の界面活性剤を含むのが好みしい。

酸、ビペラジン-N,N-ビス(2-エタンスルホン酸)、N-(2-アセトアミド)-2-アミノエタンスルホン酸、N,N-ビス(2-ヒドロキシエチル)-2-アミノエタンスルホン酸、N-トリス(ヒドロキシメチル)-メチル-2-アミノエタンスルホン酸、およびN-2-ヒドロキシエチルビペラジン-N-2-エタンスルホン酸、およびトリス緩衝液(2-アミノ-2(ヒドロキシメチル)-1,3-プロパンジオールから調導された緩衝液)を含む。「良」およびトリス緩衝液はシグマ・ケミカル・カンパニー(Sigma Chemical Company)から入手可能である。イミダゾールは緩衝液として使用するべきではない。これらの緩衝液は約4～約8の好みしいpH範囲を提供するのに使用され得る。最も好みしいpH範囲は約6～約7である。最も好みしい緩衝液は約0.1M～約0.5M、好みくは約0.4Mのリン酸塩(例えば、リン酸カリウム)である。(これらの濃度範囲は電極表面上で乾燥する前の試薬組成物に関する。)

試薬は、さらに、試薬を安定させるのに充分なタイプおよび充分な量の試薬安定剤を含むのが好みしい。該試薬安定剤は酵素を安定

例え、グルコース含有ヒト全血試料分析用試薬において、該界面活性剤はノニオン界面活性剤であるのが好みしい。試薬中に界面活性剤約0%(重量:容量)～約0.3%(重量:容量)が存在し得る。

界面活性剤約0.3%(重量:容量)以上では、赤血球が溶血し始める。グルコース試薬中の好みしい界面活性剤は好みしい濃度が約0.05%(重量:容量)のTRITON X-100[シグマ・ケミカル・コーポレーション(Sigma Chemical Corporation)から入手可能]である。(これらのパーセンテージは電極表面上で乾燥する前の試薬組成物に関する。)

酵素機能について満足なpHを提供し、かつ酸化還元メディエーターの還元型よりも高い酸化電位を有するという前記必要条件を満足するいずれの緩衝液も使用し得る。

酵素グルコースオキシダーゼを使用するグルコース試薬に関するこのような緩衝液の例は、リン酸塩、クエン酸塩(クエン酸塩は試薬を安定させるのを助ける)、「良」緩衝液(例えば、2-(N-モルホリノ)エタンスルホン酸、N-(2-アセトアミド)イミド二酢

酸、ビペラジン-N,N-ビス(2-エタンスルホン酸)、N-(2-アセトアミド)-2-アミノエタンスルホン酸、N,N-ビス(2-ヒドロキシエチル)-2-アミノエタンスルホン酸、N-トリス(ヒドロキシメチル)-メチル-2-アミノエタンスルホン酸、およびN-2-ヒドロキシエチルビペラジン-N-2-エタンスルホン酸、およびトリス緩衝液(2-アミノ-2(ヒドロキシメチル)-1,3-プロパンジオールから調導された緩衝液)を含む。「良」とトリス緩衝液はシグマ・ケミカル・カンパニー(Sigma Chemical Company)から入手可能である。イミダゾールは緩衝液として使用するべきではない。これらの緩衝液は約4～約8の好みしいpH範囲を提供するのに使用され得る。最も好みしいpH範囲は約6～約7である。最も好みしい緩衝液は約0.1M～約0.5M、好みくは約0.4Mのリン酸塩(例えば、リン酸カリウム)である。(これらの濃度範囲は電極表面上で乾燥する前の試薬組成物に関する。)

酵素グルコースオキシダーゼおよび酸化還元メディエーターの酸化型としてヘキサシアノ鉄(III)酸塩を使用する好みしいグルコース試薬を作成するプロトコルは以下のとおりである：

工程1 - pH 6.25の水性リン酸カリウム緩衝液(一塩基性リン酸カリウム80.062gおよび二塩基性リン酸カリウム26.423gを含む)0.740MにNATROSOL-250 M 1.2000gを添加することによって緩衝液/NATROSOL混合物1Lを(メスフラスコ中で)調製する。3時間、NATROSOLを攪拌お

Best Available Copy

より影響させる。

工程2 - 20分間、AVICEL RC-591 F 14.00

0.0gおよび水504.7750gを搅拌することによってAVICEL混合物を調製する。

工程3 - 液滴液/NATROSOL混合物514.6000gにTRITON X-100 0.5000gを添加することによってTRITON混合物を調製し、15分間搅拌する。

工程4 - 搅拌しつつ、油下漏斗またはビューレットを用いて合計AVICEL混合物に合計TRITON混合物を滴下する。添加終了後、一晩搅拌し続ける。

工程5 - 搅拌しつつ、工程4から得た混合物にヘキサシアノ鉄(Ⅲ)酸塩98.7750gを添加する。(ヘキサシアノ鉄(Ⅲ)酸塩を一度に少量ずつ加えて添加と同時にヘキサシアノ鉄(Ⅲ)酸塩を溶解させる。)

工程6 - 20分間、工程5の得られた混合物を搅拌する。

工程7 - 水酸化カリウムを添加することによって、工程6から

鉄(Ⅲ)酸塩の還元を触媒する酵素(グルコースオキシダーゼ)も含有するであろう。

次いで、試薬11を約50°Cで約3分間加熱することによって乾燥する。乾燥によって試薬の含水量の少なくとも約9.0%を除去し、

この結果、以下の割合の成分を有する好ましい乾燥試薬が得られる
: 乾燥試薬1g当たりヘキサシアノ鉄(Ⅲ)酸塩約1.1~約1.5ミリモル；試薬乾燥による酵素活性75%損失(異常に高い酵素活性損失)を仮定して乾燥試薬1g当たりグルコースオキシダーゼ約2.300~約2.600単位、試薬乾燥による酵素活性のより典型的な6%損失を仮定して乾燥試薬1g当たりグルコースオキシダーゼ約0.600~約0.900単位、および試薬乾燥による酵素活性の損失がないと仮定してグルコースオキシダーゼ約0.200~約0.400単位；乾燥試薬1g当たりリン酸塩緩衝液約1.3~約1.8ミリモル；乾燥試薬1g当たりNATROSOL-260 M約2~約3gおよび乾燥試薬1g当たりAVICEL RC-591 F約5.0~約7.1g(乾燥試薬1g当たり微結晶性物質の合計約3.6~約2.28g)；乾燥試薬1g当たりグルタミン酸塩約0~約2.00g；ならびに乾燥試薬1g当たりTRITON X-100約2~約3g。

得られた混合物のpHを6.25に調整する。

工程8 - 工程6の得られた混合物にグルコースオキシダーゼ[バイオzyme(Biozyme)からの218.50単位/g]9.1533g

を添加し、少なくとも20分間搅拌する。

工程9 - 工程8の得られた混合物にグルタミン酸カリウム20gを添加し、少なくとも20分間搅拌する。

工程10 - 100ミクロンのシープバッグを介して、工程9の得られた混合物を通過して如何なるAVICEL塊をも除去する。滤液は得られた試薬粗成物であり、これを電極表面に添加し、次いで、乾燥する。

グルコース測定に関する好ましい具体的において、前記プロトコルによって作成した試薬6mlを切欠部8によって形成されたケル9に添加する。この試薬11の量は、両電極上の表面積1.0を実質的に被覆するであろうし(第1図および第2図)、約20秒以内で完了させるのに充分な量のヘキサシアノ鉄(Ⅲ)酸塩、および充分な量の、グルコース(ヒト全血の試料由来)の酸化およびヘキサシアノ

約7.4g)；乾燥試薬1g当たりグルタミン酸塩約7.1~約10.2g；ならびに乾燥試薬1g当たりTRITON X-100約2~約3g。

前記のとおり、配合試薬(乾燥前)の各成分は所定の制限範囲内で

変化し得る。したがって、前記の乾燥したグルコース試薬は以下の広範団な成分を含む：乾燥試薬1g当たりヘキサシアノ鉄(Ⅲ)酸塩約0.55~約3.5ミリモル；試料乾燥による酵素活性の75%損失(異常に高い酵素活性の損失)を仮定して乾燥試薬1g当たり約5.70単位を超えるグルコースオキシダーゼ；試料乾燥による酵素活性のより典型的な6%損失を仮定して乾燥試薬1g当たり約2.10単位を超えるグルコースオキシダーゼ；乾燥試薬1g当たりリン酸塩約0.35~約2.6ミリモル；乾燥試薬1g当たりNATROSOL-260 M約0~約1.5gおよび乾燥試薬1g当たりAVICEL RC-591 F約3.6~約2.13g(乾燥試薬1g当たり微結晶性物質の合計約3.6~約2.28g)；乾燥試薬1g当たりグルタミン酸塩約0~約2.00g；ならびに乾燥試薬1g当たりTRITON X-100約2~約3g。

ON X-100 約0~約1.8mA.

乾燥後、好みしくは、ポリエスチルまたはナイロンマッシュ13(第2図および第3図)を乾燥試薬の上部に置いて、輸送および管理中のバイオセンサーからの試薬の損失防止を促進し、試薬からヒト汚染を最小限度にするのを助ける。穴15を含む接着テープ14によって本発明装置にマッシュ13を貼付する(第2図および第3図)。穴15は本発明装置によって測定されるべき分析物を含有する試料を添加するための標的孔である(第3図)。

試薬を乾燥し、マッシュを貼付した後、ロール成形バイオセンサーを打抜きによって切り離し、該バイオセンサーは、1)作用電極および対電極と電気的に連結しており、かつ作用電極の表面での酸化還元メディエーターの還元型の拡散限界電気酸化を生じるのに充分な電位差を作用電極および対電極間に供給することができる電源、ならびに2)作用電極および対電極と電気的に連結しており、かつ上記電位差が印加されると酸化還元メディエーターの還元型の酸化によって生じる拡散限界電流を測定することができる計量器を接続して液体試料中の分析物の濃度を測定してよい:

- a) 作用電極および対電極の実質的に同一の表面積を実質的に被覆する試薬(前記)と液体試料を接触させ;
- b) 分析物および酸化還元メディエーターの酸化型間の反応を完全に行わせ;
- c) 次いで、作用電極の表面で酸化還元メディエーターの還元型の拡散限界電気酸化を生じるのに充分な電位差を電極間に印加し;
- d) その後、得られた拡散限界電流を測定し;
- e) 液体中の分析物の濃度と電流測定値を関連させる。

多くの分析物含有液体を分析し得る。例えば、全血、血清、尿および脳脊髄液のようなヒト体液中の分析物を測定し得る。また、発酵産物中、および環境汚染物を潜在的に含有する環境物質中に見られる分析物を測定し得る。

ヒト体液、特に全血中に見られる分析物を測定する場合、電極間に印加された電位差は、約500ミリボルト以下であるべきである。

約500ミリボルト以上の電位差を電極間に印加すると、作用電極

して使用される。

前記計量器は、通常、電流測定値にアルゴリズムを適用するのに適当であり、これによって分析物濃度が提供され、目に見えるよう表示される。このような電源および計量器の改良は、同時に提出された米国特許第4,963,814号(1990年10月16日発行)、および米国特許出願第07/451,212号(1988年1月15日出願; 1990年11月6日許可通知発行; 1990年1月30日登録料支払)、第07/451,108号(1988年2月15日出願; 1990年9月24日許可通知発行; 1990年10月31日登録料支払)および第07/451,309号(1989年1月12月15日出願)の対象であり、これらの記載は本明細書に引用記載する。

電源および計量器の簡易な電気的連結のために、作用電極および対電極の部分を暴露するさらなる切欠部(第1図ー第3図)がバイオセンサー装置中に提供されるのが好みしい。

上記バイオセンサー装置を使用して、以下の工程を行うことによっ

て液体試料中の分析物の濃度を測定してよい:

表面(パラジウムについて)およびいくつかの血液成分の酸化が耐えられなくなり得、これによって電流の分析物濃度との正確かつ既格な関連が妨げる。酸化還元メディエーターの酸化型がヘキサシアノ鉄(II)酸塩である場合の全血試料におけるグルコースのアッセイについて、電極間に約150ミリボルト~約500ミリボルトの電位差を印加して、作用電極の表面での酸化還元メディエーターの還元型の拡散限界電気酸化を達成してよい。好みしくは、電極間に約300ミリボルトの電位差を印加する。

酸化還元メディエーターの還元型の酸化から生じる電流は、電極間に電位差を印加した約0.5秒~約30秒後のいずれの時にも測定し得る。約0.5秒未満では、拡散限界電流は達成されなかった。約30秒後、対流が有意になり、これによって拡散限界電流の測定を妨げられる。好みしくは、電極間に電位差を印加した約10秒後に電流を測定し、測定された電流を試料中の分析物濃度と関連させる。

ヒト全血試料由来のグルコースの好みしい分析方法において、前

Best Available Copy

記の好ましいグルコース試薬に全血 20 μl を加える。グルコースおよびヘキサシアノ鉄(III)酸塩の反応を完全に行わせ、これによつてグルコン酸およびヘキサシアノ鉄(II)酸塩を形成する。この反応は、通常、完全に行わせるのに短い時間を要し、好ましい具体例においては、該反応は約 20 秒未満で完全に行われる。全血試料の添加の約 30 秒後に、電極間に約 300 ミリボルトの電位差を印加し、これによって作用電極の表面でヘキサシアノ鉄(II)酸塩をヘキサシアノ鉄(III)酸塩に酸化する。電極に該電位差を印加した約 10 秒後、電流を測定し、血液試料中のグルコースの濃度と関連させる。

試料のグルコース濃度は、本発明のバイオセンサーを使用する本発明の方法によって正確かつ厳密に測定され得る。さらに、ヒト全血試料を測定した場合、ヘマトクリット効果による誤差は有意ではない。

本発明の変形として、対電極が作用電極よりも小さくてよい。対電極が作用電極よりも小さい場合、試薬 1 に供給される酸化還元メディエーターの酸化型の量は増加しなければならない。電流に分

エーターの還元型が触媒量の酵素(例えば、リグクターゼ)の存在下で酸化される液体試料中の分析物濃度のそんていをするために使用してもよい。分析物、酵素および酸化還元メディエーターの還元型を含む反応が完了に達した後、電極間に電位差を印加する。対電極(この場合、カソードよりもむしろアノード)での酸化還元メディエーターの還元型の量および印加された電位差は、作用電極(この場合、アノードよりもむしろカソード)の表面での酸化還元メディエーターの酸化型の拡散限電気還元を生じるのに充分でなければならない。作用電極表面での酸化還元メディエーターの酸化型の還元によって生じた拡散限電流を分析される試料中の分析物濃度と関連させる。

酸化還元メディエーターは容易に可逆できなければならず、試薬 1 中の酸化還元メディエーターの還元型の量は、電気還元中に生じる電流を作用電極表面での酸化還元メディエーターの酸化型の還元によって確実に固定するのに充分でなければならない。

また、緩衝液は、酸化還元メディエーターの酸化型の還元電位よ

分析物の濃度を正確に間連させるための前記必要条件が満足されなければならない: すなわち、

1) 酸化還元メディエーターの還元型の酸化速度は作用電極の表面に対する酸化還元メディエーターの還元型の拡散速度によって左右され:

2) 生じた電流は作用電極の表面での酸化還元メディエーターの還元型の酸化によって既定されるので、試薬 1 中の酸化還元メディエーターの酸化型の量は増加しなければならない。

例えば、対電極が作用電極の約半分の大きさである場合にヘキサシアノ鉄(III)酸塩約 2700 ナノモルおよびヘキサシアノ鉄(II)酸塩約 800 ナノモルの混合物(水 20 μl に溶解)は前記必要条件を満足した。

また、本発明は酸化される分析物および触媒量の酵素の存在下で還元される酸化還元メディエーターによって説明された。しかし、本発明装置、試薬および方法は、分析物が還元され、酸化還元メディ

エーターの還元型が触媒量の酵素(例えば、リグクターゼ)の存在下で酸化される液体試料中の分析物濃度のそんていをするために使用してもよい。分析物、酵素および酸化還元メディエーターの還元型を含む反応が完了に達した後、電極間に電位差を印加する。対電極(この場合、カソードよりもむしろアノード)での酸化還元メディエーターの還元型の量および印加された電位差は、作用電極(この場合、アノードよりもむしろカソード)の表面での酸化還元メディエーターの酸化型の拡散限電気還元を生じるのに充分でなければならない。作用電極表面での酸化還元メディエーターの酸化型の還元によって生じた拡散限電流を分析される試料中の分析物濃度と関連させる。

当業者が本発明を製造および使用し、本発明を実施するための最もモードを知り、他の発明および従来の発明と本発明を区別することができるほど充分に明瞭かつ簡明に上記説明および図面において本発明を記載した。本発明の多くの変形および明白な適用は容易に考えられるであろうし、これらは以下に請求される発明の範囲内に含まれることを意図する。

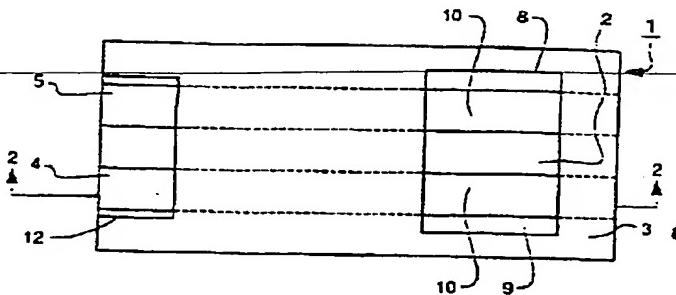


FIG. 1

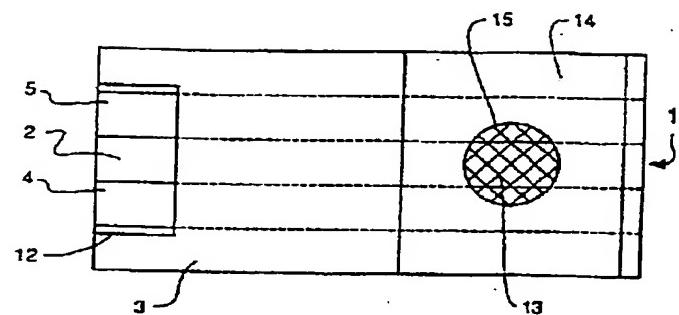


FIG. 3

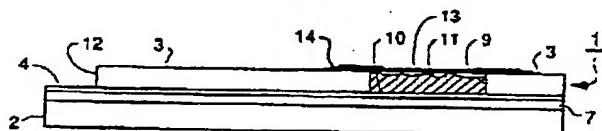


FIG. 2

要 約 概

新規バイオセンサーおよびその使用方法。該バイオセンサーは同一の導電性物質から作られた実質的に同一の大きさの作用電極および対電極を含む。

試薬は作用電極および対電極の一部の実質的に等しい表面積を被覆する。該試薬は酸化還元メディエーター、酵素、および緩衝液を含む。

該試薬に分析物含有試料を添加すると、酸化還元メディエーターが還元される(少なくとも1個の電子を受容する)かまたは酸化される(少なくとも1個の電子を供与する)かいずれかである反応において、分析物、酵素、および酸化還元メディエーターが沈殿する。一般に、この反応において、分析物は酸化され、酸化還元メディエーターは還元される。この反応(ここで、分析物が酸化され、酸化還元メディエーターが還元される)が完了した後、電極間に電位差を印加する。対電極での酸化還元メディエーターの酸化型の量および印加された電位差は、作用電極の表面で酸化還元メディエーターの

還元型の拡散限界電気酸化を生じるのに充分でなければならない。

短時間遅延の後、酸化還元メディエーターの還元型の電気酸化によつて生じる電流を測定し、観察された電流は該試料中の分析物の量と関連される。

試薬が、作用電極表面での酸化還元メディエーターの還元型の酸化によって、電気酸化中に生じる電流を確実に限定するのに充分な量の酸化還元メディエーターの酸化型を含む場合、同一の導電性物質から作られた実質的に同一の大きさの2つの電極が必要なだけであるのが重要である。

作用電極での酸化還元メディエーターの還元型の酸化によって限定されるべき電気酸化中に生じる電流について、対電極の表面での酸化還元メディエーターの酸化型の量は常に作用電極の表面での酸化還元メディエーターの還元型の量を超えてなければならない。

Best Available Copy

国際検索報告	
International Application No. PCT/US90/07374	
1. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER in terms ofIPC Cooperative Patent Classification (IPC) or in terms of national classification and IPC	
IPC(S) C12Q 1/54; C12H 3/36 C 12 Q 1/54; 280.817	
SEARCHED	
SEARCHED AND SEARCHED FOR DOCUMENTS WHICH COULD BE RELEVANT	
U.S. CL. 435/14, 280.817	
Documentation referred to in this International Search Report is not included in the International Search Report.	
III. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT	
Category: "C" (not included where documents of one of the following categories: - Reference to Other Categories)	
P,T	US. A. 4,959,305 (Woodrum) 25 September 1990, see entire document. 2,5,8-12,14,15, 15,21-23,25 23-25,33,37 39,46,50-52, 54,57
T	US. A. 4,830,959 (McNeil et al.) 16 May 1990, see entire document. 1-57
T	US. A. 4,758,323 (Davis et al.) 10 July 1988, see entire document. 1-57
T	US. A. 4,224,125 (Wakamura et al.) 23 September 1980, see entire document. 1-57
IV. DECLARATION	
I declare that I have examined the documents referred to above and that they do not contain any information which could be construed as constituting an infringement of my application for patent or utility model or of any other rights of mine.	
I declare that I have examined the documents referred to above and that they do not contain any information which could be construed as constituting an infringement of my application for patent or utility model or of any other rights of mine.	
I declare that I have examined the documents referred to above and that they do not contain any information which could be construed as constituting an infringement of my application for patent or utility model or of any other rights of mine.	
I declare that I have examined the documents referred to above and that they do not contain any information which could be construed as constituting an infringement of my application for patent or utility model or of any other rights of mine.	
V. SIGNATURE	
Date of the Above Declaration of the International Searcher:	18 APR 1991
24 March 1991	<i>Janelle D. Waack</i>
International Searching Authority:	Signature/Printed Name of International Searching Authority
ISA/OS	Janelle D. Waack

FURTHER INFORMATION CONTINUES FROM THE SECOND SHEET	
<input checked="" type="checkbox"/> OBSERVATIONS WHERE CERTAIN CLAIMS WERE FOUND UNSEARCHABLE This International Search Report does not make reference to any of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons: <input type="checkbox"/> Other reasons _____ and those may refer to subject matter that requires to be reported by this document, namely: <input type="checkbox"/> Date unknown _____, because of their date or some of the international applications that are not complete with the prescribed priority date to be filed or granted that the examination of certain claims for an invention can't be completed. <input type="checkbox"/> Other reasons _____, because they are described claims not related in accordance with the second and third sentence of Article 6(4) and 6(5). <input checked="" type="checkbox"/> OBSERVATIONS WHERE AN INVENTION IS LOCATED The International Searching Authority would like to point out the following observations as follows: I. Process and apparatus for performing process of detection of an analyte by a biosensor, classified in class 435, subclass 268 (claims 1-15, 24-33 and 36-57); II. A reagent classified in class 435, subclass 14 (claims 16-23, 34 and 35). 1. As a result of the examination, the International Searching Authority could not find any document which makes claims of certain claims of the international application. 2. As a result of the search additional search was kindly paid by the applicant, the International Searching Authority could only found claims of the international application for which there were more than 10000 claims. 3. No relevant additional claims were made freely paid by the applicant. Consequently, this International Search Report is limited to the invention first mentioned in the search; it is covered by claim numbers: 4. As of publication date, no search was performed without inform specifying an end date for. The International Searching Authority did not receive payment of any registration fee. <input type="checkbox"/> No fees are required. <input type="checkbox"/> The published search fees were determined by request of applicant. <input type="checkbox"/> No protest was received by the patent office concerned. From PCT/ISA/210 issued since 1990	

第1頁の続き

④Int.Cl. ⁵	識別記号	内整理番号
G 01 N 27/28 27/416	3 3 1 Z	7235-2J
// C 12 M 1/34	E	7229-4B
C 12 Q 1/00	B	6807-4B
1/26		6807-4B
1/54		7235-2J G 01 N 27/46 3 3 6 Z
②発明者 オウクス, エム・ルーアン		アメリカ合衆国46234インディアナ州、インディアナポリス、チャーチル・パインズ・ドライブ8510番
②発明者 コスト, ケント・エム		アメリカ合衆国46038インディアナ州、フィツシャーズ、アシュリイ・ブレイス11229番
②発明者 ベイトソン, ジョウジフ・イー		アメリカ合衆国46038インディアナ州、フィツシャーズ、イースト・ナインティエイズ・ストリート6380番
②発明者 ウォーリング, ピー・ダグラス		アメリカ合衆国46256インディアナ州、インディアナポリス、シーブリーズ・ウェイ10216番
②発明者 ポールマン, クラウス・ハー		ドイツ連邦共和国デーネ8823ノイルスハイム、エルフルター・ヴェーク1番

【公報種別】特許法第17条第1項及び特許法第17条の2の規定による補正の掲載

【部門区分】第6部門第1区分

【発行日】平成9年(1997)10月14日

【公表番号】特表平5—505459

【公表日】平成5年(1993)8月12日

【年通号数】

【出願番号】特願平3—502803

【国際特許分類第6版】

G01N 27/327

27/28 331

27/416

// C12M 1/34

C12Q 1/00

1/26

1/54

【F I】

G01N 27/30 353 R 0275-2J

27/28 331 Z 0275-2J

C12M 1/34 E 7804-4B

C12Q 1/00 B 7823-4B

1/26 7823-4B

1/54 7823-4B

G01N 27/30 353 F 0275-2J

27/46 336 Z 0275-2J

手続補正書

平成 6年12月10日

特許庁長官様

1. 事件の表示

平成6年3月特許第502803号



2. 補正をする者

本件との関係 特許出願人

名称 ベーリング・マンハイム・コーポレーション

3. 代理人

住所 〒540
大阪府大阪市中央区城見1丁目3番2号 IMPビル
百山特許事務所
電話(05)242-1251
FAX(05)343-0381

氏名 井澤士 (6211) 百山



4. 補正命令の当付

白兎(出版者五請求と同時)

5. 補正の対象

物類の範囲

品目別の範囲



オキシダーゼ約5,000~約6,400単位、および試薬乾燥による酵素活性の損失がないと仮定してグルコースオキシダーゼ約5,400~約6,800単位；乾燥試薬1g当たりリリン酸塩換算約1.0~約1.3ミリモル；乾燥試薬1g当たりNATROSOL-250 M約1.6~約2.1g、および乾燥試薬1g当たりAVICEL RC-591 P約3.8~約4.8g(乾燥試薬1g当たり微結晶性物質の合計約4.0~約5.0g)；乾燥試薬1g当たりグルタミン酸塩約0.3~約0.4ミリモル；ならびに乾燥試薬1g当たり干糞TOD-N-X-1-0-0約1-3~約1-7mg。」と補正します。

(7) 第25頁第5行~第26頁第1行

「したがって、……約1.8g。」とあるを、

「したがって、乾燥試薬(試薬の水分の少なくとも90%が除去されている)における各成分の量の記載範囲は、上述の好みしい割合の範囲より広い。」と補正します。

B. 首次の範囲

別紙の通り。

6. 検査の内容

A. 明確性

(1) 第1頁第2行

「新成バイオセンサーおよびその使用方法」とあるを、「強化還元メティエーターおよびバイオセンサー」と補正します。

(2) 第5頁第2行

「強化還元メ」であるを、「強化還元メティエーター」と補正します。

(3) 第15頁第12行

「同様単位(単位)」であるを、「単位」と補正します。

(4) 第18頁第1行

「カルボキシメチルセルロース」とあるを、
「ヒドロキシメチルセルロース」と補正します。

(5) 第19頁第15行~第20頁第7行

「(例えば、……試薬液)」とあるを、
「(例えば、2-(N-モルホリノ)エタンスルホン酸、N-(2-アセトアミド)-2-イミド二酢酸、ピペラジン-N,N'-ビス(2-エタンスルホン酸)、N-(2-アセトアミド)-2-アミノエタンスルホン酸、N,N-ビス(2-ヒドロキシエチル)-2-アミノエタンスルホン酸、N-トリス(ヒドロキシエチル)メテル-2-アミノエタンスルホン酸、およびN-2-ヒドロキシエチル-ビペラジン-N'-2-エタンスルホン酸、およびトリス(ヒドロキシエチル)-2-(ヒドロキシメチル)-1,3-ブロバンジオールから説得された技術法)」と補正します。

(6) 第24頁第6行~第5頁第3行

「乾燥試薬……約3mg。」とあるを、

「乾燥試薬1g当たりヘキサヒドロ(四氷点降低0.8~約1.0ミリモル；試薬乾燥による酵素活性7.5%消失(通常高い酵素活性消失)を仮定して乾燥試薬1g当たりグルコースオキシダーゼ約1.0~約1.700単位、試薬乾燥による酵素活性のより典型的な6.9%消失を仮定して乾燥試薬1g当たりグルコース

請求の範囲

1. a. 第1電気绝缘体：

b. 同一の導電性物質から作られ、かつ第1電気绝缘体上に火持されている実質的に同一の大きさの作用電極^aおよび、^b非活性でない対電極：

c. 第1電気绝缘体および走査に上向きし、かつ作用電極および対電極の実質的に等しい表面積を有する切欠部を含む第2電気绝缘体；ならびに

d. 以降部において疊層される試験部位を実質的に接觸し、かつ強化還元メティエーターの底面、側面および頂面からなる試験からなり、

強化還元メティエーターの酸化型が酵素、分析物、および強化還元メティエーターの酸化型を含む反応から少なくとも1個の電子を受容するのに充分なタイプであり、かつ放電規定充放電によって生じる浴溶を作用電極表面での強化還元メティエーターの還元型の酸化によって表面に凝定するのに充分な試であり、

酵素が酵素、分析物および強化還元メティエーターの酸化型を含む反応を触媒するのに充分なタイプおよび充分な量であり、

試薬が酸化還元メティエーターの還元型よりも高い純度を有し、かつ酵素、分析物、および強化還元メティエーターの酸化型を含む反応を酵素が触媒するに提供し構成するのに充分なタイプおよび充分な量であることを特徴とする分析物分析装置。

2. 試薬がさらに、試薬中で強化還元メティエーターを分散させものに充分なタイプおよび充分な量の強精品質物質からなる請求項1記載の装置。

3. 試薬がさらに、少なくとも1つのさらなる酵素およびさらなる強化還元メティエーターからなる請求項1記載の装置。

4. 作用電極および対電極の導電性物質のパラジウム、白金、金、銀、チタン、鋼および銅からなる群から選択される電極項1記載の装置。

5. 試薬がさらに、分析物を含有する試料を処理するに充分なタイプおよび充分な量の界面活性剤からなる請求項1記載の装置。

6. 試薬がさらに、試薬を安定させるに充分なタイプおよび充分な量の試薬安定剤からなる請求項1記載の装置。

7. 分析物がグルコースであり、酸化還元メディエーターの酸化型がヘキサノ酸(IV)塩酸であり、酵素がグルコースオキシダーゼである請求項1記載の試験。

8. 分析物がグルコースであり、酸化還元メディエーターの酸化型がヘキサノ酸(IV)塩酸であり、酵素がグルコースオキシダーゼである請求項2記載の試験。

9. 分析物がグルコースであり、酸化還元メディエーターの酸化型がヘキサノ酸(IV)塩酸であり、酵素がグルコースオキシダーゼであり、界面活性剤がノニオン界面活性剤であり、試薬安定剤がグルタミン酸塩、アスパラギン酸塩、ブルーデキストラン、およびトレハロースからなる群から選択される請求項6記載の試験。

10. a. 第1電気泳動体：

b. パラジウムから作られ、かつ第1電気泳動体上で支持される実質的に同一の大きさの作用電極、および、参照電極でない対電極；

c. 第1電気泳動体および酸素に上りし、かつ作用電極および対電極の充実的に等しい表面を有する初欠部を含む第2電気泳動体；ならびに

d. 初欠部において展開されると電極表面を実質的に被覆し、かつ

- 1) 試薬1g当たりヘキサノ酸(IV)酸塩約0.8～約1.0ミリモル、
- 2) 試薬1g当たりリン酸塩緩衝液約1.0～約1.3ミリモル、
- 3) 試薬1g当たりグルコースオキシダーゼ約1.300～約6.800単位、

4) 試薬1g当たり酵素活性セルロース約3.8～約4.8mg、

5) 試薬1g当たり酵素活性ヒドロキシメチルセルロース約1.6～約2.

上四、

6) 試薬1g当たりTRITON X-100約1.3～約1.7mg、および

7) 試薬1g当たりグルタミン酸塩約0.3～約0.4ミリモル

からなる試験

からなることを特徴とするグルコース分析試験。

11. さらに、

a. 作用電極および対電極を電気的に連結され、作用電極の表面で酸化還元メディエーターの酸化型が酸化還元電極表面で酸化還元電極により対電極間に供給することができる電圧；ならびに

b. 作用電極および対電極と電気的に連結し、作用電極表面での酸化還元メディエーターの還元型の酸化によって生じる酸化還元電流を測定することができる計量器

からなる請求項1記載の装置。

12. さらに、

a. 作用電極および対電極と電気的に連結され、作用電極の表面で酸化還元メディエーターの還元型の酸化還元電極表面で酸化還元電極および対電極間に供給することができる電圧；ならびに

b. 作用電極および対電極と電気的に連結し、作用電極表面での酸化還元メディエーターの還元型の酸化によって生じる酸化還元電流を測定することができる計量器

からなる請求項6記載の装置。

13. 第2電気泳動体がさらに作用電極および対電極の一部を形成するさらなる初欠部を含み、試薬がさらに、

e. さらなる初欠部で作用電極および対電極と電気的に連結され、かつ作用電極の表面で酸化還元メディエーターの還元型の酸化還元電極表面で酸化還元電極および対電極間に供給することができる電圧；ならびに

f. 作用電極および対電極と電気的に連結し、作用電極表面での酸化還元メディエーターの還元型の酸化によって生じる酸化還元電流を測定することができる計量器

からなる請求項1記載の装置。

14. 酸化還元メディエーターの酸化型、酵素、および緩衝液からなり、酸化還元メディエーターの酸化型が酵素、分析物、および酸化還元メディエーターの酸化型を含む反応

ーの酸化型を含む反応から少なくとも1個の電子を受容するのに充分なタイプであり、かつは酸化還元電気酸化によって生じる電流を作用電極表面での酸化還元メディエーターの還元型の酸化によって精度よく測定するのに充分な量であり、該酵素が酵素、分析物、および酸化還元メディエーターの酸化型を含む反応を触媒するのに充分なタイプおよび充分な量であり、

該緩衝液が酸化還元メディエーターの還元型よりも高い酸化電位を有し、かつ酵素、分析物、および酸化還元メディエーターの酸化型を含む反応を酵素が触媒する反応を促進するのに充分なタイプおよび充分な量であることを特徴とする、作用電極、および、参照電極でない対電極を有し、かつ分析物を測定する方法のための試験。

15. 試薬がさらに、少なくとも1つのさらなる酵素およびさらなる酸化還元メディエーターからなる請求項1記載の試験。

16. さらに、試験中で酸化還元メディエーターを分散させるのに充分なタイプおよび充分な量の微結晶生物質からなる請求項14記載の試験。

17. さらに、分析物有試料を調製するのに充分なタイプおよび充分な量の界面活性剤からなる請求項15記載の試験。

18. さらに、試薬を安定させるのに充分なタイプおよび充分な量の試薬安定剤からなる請求項17記載の試験。

19. 分析物がグルコースであり、酸化還元メディエーターの酸化型がヘキサノ酸(IV)塩酸であり、緩衝液がリン酸塩であり、微結晶生物質が微結晶性セルロースおよび微結晶性ヒドロキシメチルセルロースを含み、酵素がグルコースオキシダーゼであり、界面活性剤がノニオン界面活性剤であり、試薬安定剤がグルタミン酸塩、アスパラギン酸塩、ブルーデキストラン、およびトレハロースからなる群から選択される請求項18記載の試験。

20. a. 試薬1g当たりヘキサノ酸(IV)酸塩約0.8～約1.0ミリモル；

b. 試薬1g当たりリン酸塩緩衝液約1.0～約1.3ミリモル、

c. 試薬1g当たりグルコースオキシダーゼ約1.300～約6.800単位；

d. 試薬1g当たり微結晶性セルロース約3.8～約4.8mg；

e. 試薬1g当たりヒドロキシメチルセルロース約1.6～約2.1mg

f. 試薬1g当たりTRITON X-100約1.3～約1.7mg；および

g. 試薬1g当たりグルタミン酸塩約0.3～約0.4ミリモル

からなることを特徴とする、作用電極、および、参照電極でない対電極を有し、かつグルコースを測定する電気化学的装置のための試験。

21. a. 作用電極、および、参照電極でない対電極の実質的に等しい表面積を有し、かつ酸化還元メディエーターの酸化型、酵素、および緩衝液を含む試験と液体を接觸させ

【ここで、酸化還元メディエーターの酸化型は酵素、分析物、および酸化還元メディエーターの酸化型を含む反応から少なくとも1個の電子を受容するのに充分なタイプであり、かつ酸化還元電気酸化によって生じた電流を作用電極表面での酸化還元メディエーターの還元型の酸化によって精度よく測定するのに充分な量であり、

該酵素が酵素、分析物、および酸化還元メディエーターの酸化型を含む反応を触媒する反応を促進するのに充分なタイプおよび充分な量である】；

b. 酵素、分析物、および酸化還元メディエーターの酸化型を含む反応を完了させ；

c. 次いで、作用電極の表面で酸化還元メディエーターの還元型の酸化還元電流を生じるのに充分な電位差を活性間に印加；

d. その後、生じる酸化還元電流を測定；

e. 液体中の分析物の濃度と電流対応を関連付ける

工程からなることを特徴とする液体中の分析物濃度測定方法。

22. 試薬がさらに、少なくとも1つのさらなる酵素およびさらなる酸化還元

Best Available Copy

メティエーターを含む請求項2-1記載の方法。

3. 試薬がさらに、試薬中で酸化還元メディエーターを分散させるのに充分な量の試薬を含有する場合の試薬の方法。

3.4. 試薬がさらに、

試薬との接触によって試薬を湿润させそのに充分なタイマおよび十分な量の界面活性剤、および

試薬を安定させるのに充分なタイプおよび充分な量の試薬安定剤を含む請求項2-1記載の方法。

3.5. 分析物がグルコースであり、酸化還元メディエーターの酸化型がヘキサシアノ鉄(II)酸塩であり、試薬がリリン酸塩であり、試薬含有物質が試薬含有セルロースおよび試薬含有ヒドロキシメチルセルロースを含み、酵素がグルコースオキシゲナーゼであり、界面活性剤がニオニオン界面活性剤であり、試薬安定剤がグルクロン酸塩、アスペラギン酸塩、ブルーデキストラン、およびトレハロースからなる場合の請求項2-1記載の方法。

3.6. a. 作用電極、および、非対電極でない対電極の実質的に等しい表面積を統一し、かつ

試薬1g当たりヘキサシアノ鉄(II)酸度約0.9~約1.0ミリモル、

試薬1g当たりリリン酸塩濃度約1.0~約1.3ミリモル、

試薬1g当たりグルコースオキシゲナーゼ約1.300~約6.800単位、

試薬1g当たりセルロース約3.8~約4.8g、

および

試薬1g当たりグルクロン酸塩約0.3~約0.4ミリモル

を含む試薬と液体を接触させ、

b. 酵素、分析物、および酸化還元メディエーターの酸化型を含む反応を完了させ;

c. 次いで、作用電極の表面で酸化還元メディエーターの還元型の拡散限界電気活性化を生じるのに充分な電位差を電極間に印加し:

d. その後、生じる拡散限界電位を測定し;

e. 液体中のグルコースの濃度を電気活性化に関連させる

工程からなることを特徴とする試薬中のグルコース濃度測定方法。

3.7. a. 第1電気絶縁体:

b. 同一の導電性物質から作られ、かつ第1電気絶縁体上で支持される実質的に同一の大きさの作用電極、および、非対電極でない対電極;

c. 第1電気絶縁体が水および電極上に取りし、かつ作用電極および対電極の実質的に等しい表面積を有する切欠孔を含む第2電気絶縁体; および

d. 初期部において絶縁される電極表面を実質的に被覆し、かつ酸化還元メディエーターの還元型、酵素、および試薬からなる試薬からなり、

酸化還元メディエーターの還元型が酵素、分析物、および酸化還元メディエーターの還元型を含む反応から少なくとも1回の電子を供与するのに充分なタイプであり、かつ酸化還元電位によって生じる電流を作用電極表面での酸化還元メディエーターの酸化型の還元によって電流に固定するのに充分な量であり、

該酵素が酵素、分析物、および酸化還元メディエーターの還元型を含む反応を触媒するのに充分なタイプおよび充分な量であり、

該酵素が酸化還元メディエーターの酸化型よりも低い還元電位を有し、かつ酵素、分析物、および酸化還元メディエーターの還元型を含む反応が酵素が触媒するpHを提供し維持するのに充分なタイプおよび充分な量であることを特徴とする分析物分析用装置。

3.8. 試薬がさらに、

試薬中で酸化還元メディエーターを分散させるのに充分なタイプおよび充分な量の試薬含有物質、

分析物含有試料を湿润させるのに充分なタイプおよび充分な量の界面活性剤、および

試薬を安定させるのに充分なタイプおよび充分な量の試薬安定剤からなる請求項2-7記載の装置。

3.9. さらに、

e. 作用電極および対電極と電気的に連結され、作用電極の表面で酸化還元メディエーターの酸化型の試薬限定電気活性化を生じるのに充分な電位差を作用電極および対電極間に供給することができる装置; ならびに

f. 作用電極および対電極と電気的に連結し、作用電極表面での酸化還元メディエーターの酸化型の還元によって生じる電流を作用電極表面での酸化還元メディエーターの酸化型の還元によって確定に固定するのに充分な量である計器器

からなる請求項2-7記載の装置。

3.0. 酸化還元メディエーターの還元型が酵素、分析物、および酸化還元メディエーターの還元型を含む反応から少なくとも1回の電子を供与するのに充分なタイプであり、かつ酸化還元電位によって生じる電流を作用電極表面での酸化還元メディエーターの酸化型の還元によって確定に固定するのに充分な量であり、

該酵素が酵素、分析物、および酸化還元メディエーターの還元型を含む反応を触媒するのに充分なタイプおよび充分な量であり、

該酵素が酸化還元メディエーターの酸化型よりも低い還元電位を有し、かつ酵素、分析物、および酸化還元メディエーターの還元型を含む反応が酵素が触媒するpHを提供し維持するのに充分なタイプおよび充分な量である

ことを特徴とする、作用電極、および、非対電極でない対電極を有し、かつ分析物を触媒する電気化学的装置のための試薬。

3.1. さらに、

試料中で酸化還元メディエーターを分散させるのに充分なタイプおよび充分な量の試薬含有物質:

分析物含有試料を湿润させるのに充分なタイプおよび充分な量の界面活性剤、および

試薬を安定させるのに充分なタイプおよび充分な量の試薬安定剤からなる請求項2-1記載の試薬。

3.2. a. 作用電極、および、非対電極でない対電極の実質的に等しい表面積を被覆し、かつ酸化還元メディエーターの還元型、酵素、および試薬を含む

試薬と液体を接触させ

【ここで、酸化還元メディエーターの還元型は酵素、分析物、および酸化還元メディエーターの還元型を含む反応から少なくとも1回の電子を供与するのに充分なタイプであり、かつ酸化還元電位も酸化還元によって生じた電流を作用電極表面での酸化還元メディエーターの酸化型の還元によって確定に固定するのに充分な量であり、

該酵素は酵素、分析物、および酸化還元メディエーターの還元型を含む反応を触媒するのに充分なタイプおよび充分な量であり、】

該酵素は酸化還元メディエーターの酸化型よりも低い還元電位を有し、かつ酵素、分析物、および酸化還元メディエーターの還元型を含む反応が酵素が触媒するpHを提供し維持するのに充分なタイプおよび充分な量である】:

b. 試薬素、分析物、および酸化還元メディエーターの還元型を含む反応を完了させ;

c. 次いで、作用電極の表面で酸化還元メディエーターの酸化型の試薬限定電気活性化を生じるのに充分な電位差を電極間に印加し;

d. の後、生じる試薬限定電流を測定し;

e. 試薬中の分析物の濃度と試薬測定法を関連させる

工程からなることを特徴とする試薬中の分析物濃度測定方法。

3.3. 試薬がさらに、

試薬中で酸化還元メディエーターを分散させるのに充分なタイプおよび充分な量の試薬含有物質、

分析物含有試料を湿润させるのに充分なタイプおよび充分な量の界面活性剤、および

試薬を安定させるのに充分なタイプおよび充分な量の試薬安定剤を含む請求項2-2記載の方法。

3.4. a. 第1電気絶縁体:

b. 同一の導電性物質から作られ、かつ第1電気絶縁体上で支持されている作用電極および対電極よりも小さく、非対電極でない対電極】

c. 試第1電極媒体および試第2電極上に塗りし、作用電極よりも小さい対電極の表面を墨する初欠部を含む第2電極媒体；および
d. 初欠部において墨された墨の表面を完全に被覆し、かつ酸化還元メディエーターの酸化型、酵素、および試料からなる試第3電極媒体からなり。

該酸化還元メディエーターの酸化型が酵素、分析物、および酸化還元メディエーターの酸化型を含む反応から少なくとも1回の電子を受容するのに充分なタイプであり、かつは試料または酸化還元によって生じる電流を作用電極表面での酸化還元メディエーターの還元型の酸化によって確実に固定するのに充分な量であり、

該酵素が酵素、分析物および酸化還元メディエーターの酸化型を含む反応を触媒するのに充分なタイプおよび充分な量であり、
該酸化還元メディエーターの還元型よりも高い酸化活性を有し、かつ酵素、分析物、および酸化還元メディエーターの酸化型を含む反応を酵素が触媒するpHを絶えず維持するのに充分なタイプおよび充分な量であることを特徴とする分析物分析装置。

3.5. 試葉がさらに、試薬中で酸化還元メディエーターを分散させるのに充分なタイプおよび充分な量の微結晶性物質からなる請求項3記載の装置。

3.6. 試葉がさらに、少なくとも1つのさらなる酵素およびさらなる酸化還元メディエーターからなる請求項3記載の装置。

3.7. 作用電極および対電極の導電性物質がパラジウム、白金、金、銀、チタン、鉛、および皮膜からなる群から選択される請求項3記載の装置。

3.8. 試葉がさらに、分析物含有試料を湿润させるのに充分なタイプおよび充分な量の界面活性剤からなる請求項3記載の装置。

3.9. 試葉がさらに、試葉を安定化させるのに充分なタイプおよび充分な量の試薬安定剤からなる請求項3記載の装置。

3.10. 分析物がグルコースであり、酸化還元メディエーターの酸化型がヘキサシアノ鉄(III)酸塩であり、酵素がグルコースオキシダーゼである請求項3記載の装置。

4.1. 分析物がグルコースであり、酸化還元メディエーターの酸化型がヘキサシアノ鉄(III)酸塩であり、酵素がグルコースオキシダーゼである請求項3記載の装置。

4.2. 分析物がグルコースであり、酸化還元メディエーターの酸化型がヘキサシアノ鉄(III)酸塩であり、酵素がリン酸塩であり、微結晶性物質セルロースおよび試料品とドコキシメチルセルロースを含み、酵素がグルコースオキシダーゼであり、界面活性剤がニオニオン界面活性剤であり、試薬安定剤がグルタミン酸塩、アスパラギン酸塩、ブルーデキストラン、およびトレハロースからなる群から選択される請求項3記載の装置。

4.3. さらに、

e. 作用電極および対電極と導電的に連絡され、かつ作用電極の表面で酸化還元メディエーターの還元型の酸化還元電極を生じるのに充分な導電塗を作用電極および対電極間に供給することができる電源；および

f. 作用電極および対電極と電気的に連絡し、かつ作用電極表面での酸化還元メディエーターの還元型の酸化によって生じる酸化還元電流を測定することができる計量器

からなる請求項3記載の装置。

4.4. a. 作用電極よりも小さい対電極の表面を被覆し、かつ酸化還元メディエーターの酸化型、酵素、および試料を含む試葉と液体を接触させ
【ここで、酸化還元メディエーターの酸化型が酵素、分析物、および酸化還元メディエーターの酸化型を含む反応から少なくとも1回の電子を受容するのに充分なタイプであり、かつ試料固定電極還元によって生じた電流を作用電極表面での酸化還元メディエーターの還元型の酸化によって確実に固定するのに充分な量であり、

該酵素が酵素、分析物、および酸化還元メディエーターの酸化型を含む反応を触媒するのに充分なタイプおよび充分な量であり、

該酵素は後述、分析物、および酸化還元メディエーターの酸化型を含む反応を触媒するのに充分なタイプおよび充分な量であり、

する旨を提供し維持するのに充分なタイプおよび充分な量である】：

b. 試薬本、分析物、および酸化還元メディエーターの酸化型を含む反応を充てさせ；

c. 次いで、作用電極の表面で酸化還元メディエーターの還元型の酸化還元電極化を生じるのに充分な電位差を電極間に印加し；

d. その後、生じるは試薬固定電流を測定し；

e. 液体中の分析物の濃度と電流測定期間を測定させる
工程からなることを特徴とする液体中の分析物濃度測定期間。

4.5. 試葉がさらに、少なくとも1つのさらなる酵素およびさらなる酸化還元メディエーターを含む請求項4記載の方法。

4.6. 試葉がさらに、試薬中で酸化還元メディエーターを分散させるのに充分なタイプおよび充分な量の微結晶性物質を含む請求項4.4記載の方法。

4.7. 試葉がさらに、

試葉との接触によって液体を湿润させるのに充分なタイプおよび充分な量の界面活性剤、および

試葉を安定化させるのに充分なタイプおよび充分な量の試薬安定剤を含む請求項4.5記載の方法。

4.8. a. 分析物がグルコースであり、酸化還元メディエーターの酸化型がヘキサシアノ鉄(III)酸塩であり、酵素がリン酸塩であり、微結晶性物質セルロースおよび試料品とドコキシメチルセルロースを含み、酵素がグルコースオキシダーゼであり、界面活性剤がニオニオン界面活性剤であり、試薬安定剤がグルタミン酸塩、アスパラギン酸塩、ブルーデキストラン、およびトレハロースからなる群から選択される請求項4記載の方法。

4.9. a. 第1電極媒体；
b. 同一の導電性物質から作られ、かつ第1電極媒体上で作用される作用電極、および、該作用電極よりも小さい、多環系でない対電極；

c. 第1電極媒体および尼龍に上塗りし、かつ作用電極よりも小さい対電極の表面を墨する初欠部を含む第2電極媒体；および

d. 初欠部において墨された電極表面を完全に被覆し、かつ酸化還元メディエーターの還元型、酵素、および試料からなる試薬からなり。

該酸化還元メディエーターの還元型が酵素、分析物、および酸化還元メディエーターの還元型を含む反応から少なくとも1回の電子を供与するのに充分なタイプであり、かつ試料固定電極還元によって生じる電流を作用電極表面での酸化還元メディエーターの酸化型の還元によって確実に固定するのに充分な量であり、

該酵素が酵素、分析物、および酸化還元メディエーターの還元型を含む反応を触媒するのに充分なタイプおよび充分な量であり、

該酵素は後述、分析物、および酸化還元メディエーターの酸化型を含む反応を触媒するのに充分なタイプおよび充分な量であり、

該酵素は後述、分析物、および酸化還元メディエーターの酸化型を含む反応を触媒するのに充分なタイプおよび充分な量であり、

該酵素が酵素、分析物、および酸化還元メディエーターの還元型を含む反応を触媒するのに充分なタイプおよび充分な量であることを行なうことを特徴とする分析物分析装置。

4.10. 試葉がさらに、

試薬中で酸化還元メディエーターを分散させるのに充分なタイプおよび充分な量の微結晶性物質、

分析物含有試料を湿润させるのに充分なタイプおよび充分な量の界面活性剤、

および

試葉を安定化させるのに充分なタイプおよび充分な量の試薬安定剤からなる請求項4記載の装置。

5.1. さらに、

e. 作用電極および対電極と電気的に連絡され、かつ作用電極の表面で酸化還元メディエーターの酸化型の酸化還元電極を生じるのに充分な電位差を作成する電源；および

f. 作用電極および対電極と電気的に連絡し、作用電極表面での酸化還元メディエーターの酸化型の還元によって生じる酸化還元電流を測定することができる計量器

からなる請求項4記載の装置。

5.2. a. 作用電極よりも小さい、非環状でない電極の表面を被覆し、

かつ酸化還元メディエーターの還元型、酸素、および還元剤を含む試験と液体を
接触させ

【ここで、酸化還元メディエーターの還元型は酵素、分析物、および酸化還元
メディエーターの還元型を含む反応から少なくとも1個の電子を供与するのに充分
なタイプであり、かつは酸性電気電極によって生じる電流を作用電極表面での
酸化還元メディエーターの酸化型の還元によって直ちに測定するのに充分な量で
あり、

該酵素は酵素、分析物、および酸化還元メディエーターの還元型を含む反応を
触媒するに充分な量であり、

該還元剤は酸化還元メディエーターの酸化型よりも低い還元電位を有し、かつ
酵素、分析物、および酸化還元メディエーターの還元型を含む反応を酵素が触媒
する場合も提供し得るに充分なタイプおよび充分な量である】；

b. 酵素、分析物、および酸化還元メディエーターの還元型を含む反応を完
了させ；

c. 次いで、作用電極の表面で酸化還元メディエーターの酸化型のは故に定電
位還元を生じるのに充分な電位差を電極間に印加し；

d. その後、生じる酸性電極電流を測定し；

e. 試験中の分析物の濃度と電極間距離を関連させる

工程からなる液体中の分析物濃度測定方法。

5.1. 試験がさらに、

試験中に酸化還元メディエーターを分散させるに充分なタイプおよび充分な
量の微結晶性物質、

試薬と接触させることによって液体を潤滑させるに充分なタイプおよび充分
な量の界面活性剤、および

試料を安定させるのに充分なタイプおよび充分な量の試薬安定剤からなる請求
項5.2.記載の方法。

**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning
Operations and is not part of the Official Record**

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- BLACK BORDERS**
- IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES**
- FADED TEXT OR DRAWING**
- BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING**
- SKEWED/SLANTED IMAGES**
- COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS**
- GRAY SCALE DOCUMENTS**
- LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT**
- REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY**
- OTHER:**

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.